

**UNTERSUCHUNGEN ZUR ANFANGSPHASE DES
AMINKATALYSIERTEN ZUCKERABBAUS**

JAKOB BECK

Disbui. München

1988

Untersuchungen zur Anfangsphase des
aminkatalysierten Zuckerabbaus

Dissertation

der

Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Jakob Beck
aus Vilshofen

München 1988

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Th. Severin

2. Berichterstatter: Prof. Dr. F. Eiden

Tag der mündlichen Prüfung: 28. Juli 1988

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Pharmazie
und Lebensmittelchemie der Ludwig-Maximilians-Universität
München auf Anregung und unter Anleitung von

Herrn Professor Dr. Theodor Severin

angefertigt. Für die stets großzügige Förderung und
Unterstützung dieser Arbeit spreche ich Herrn Professor
Dr. Theodor Severin meinen herzlichen Dank aus.

Herrn Professor Dr. Franz Ledl gilt mein Dank für die
Betreuung dieser Arbeit, für wertvolle Anregungen,
Ratschläge und Diskussionen.

Ich danke

- Frau K. Fritsch für die Aufnahme der ^1H -NMR Spektren
- Frau E. Visintainer für die Aufnahme der Massenspektren
- Herrn Dr. Fischer und Herrn Schönauer von der TU München für GC-MS Messungen

Inhaltsverzeichnis

Theoretischer Teil	Seite
A. Einleitung-	1
B. Mögliche Reaktionswege für reduzierende Zucker bei der Umsetzung mit Aminen.	2
C. Untersuchungen zu den einzelnen Abbauwegen:	5
1. Reduktion von Rhamnose.	5
2. Metasaccharinsäurelactone als 3-Desoxyosonfolgeprodukte.	5
3. Abfangreaktion mit ortho-Phenylendiamin (OPD).	10
4. Modellversuche und theoretische Überlegungen zur C-C Spaltung bei pH 7 in Gegenwart von Aminen.	14
4.1.	
a) Umsetzung der α Dicarbonylverbindung Phenylglyoxal <u>27</u> mit Aminen.	14
b) Theoretische Betrachtungen zur Bildung der Mandelsäure <u>31</u> sowie deren Amide <u>33a</u> und <u>33b</u> .	16
c) Überlegungen zu C-C Spaltungsreaktionen.	16
4.2. Reaktionen von Verbindungen mit Reduktonstruktur mit OPD bei pH 7.	23
4.2.1.	
a) Umsetzung des Triosereduktons <u>37</u> mit OPD.	23
b) Überlegungen zum Reaktionsmechanismus.	24
4.2.2.	
a) Umsetzung einer nach Säurehydrolyse aus <u>49a</u> dem 3-Acetoxy-5,6-O-isopropyliden-2,4-hexandion erhaltenen Verbindung mit OPD	25
b) Überlegungen zum Reaktionsmechanismus.	29
4.3. Reaktion von Erythrose <u>50b</u> mit OPD.	31
4.4. Umsetzung von Glucose bzw. Glucose/Glycin-Reaktionsprodukten mit OPD.	35
5. Reaktionen von 1-Desoxy-1-aminofructosen mit OPD.	37
5.1.	
a) Umsetzung der 1-Desoxy-1-piperidino-fructose.	37
b) Überlegungen zum Reaktionsmechanismus.	38
5.2.	
a) Umsetzung von 1-Desoxy-1-aminofructosen primärer Amine.	43
b) Überlegungen zum Reaktionsmechanismus.	44

5.3. Umsetzung von Glucose mit Piperidin in Gegenwart von OPD.	46
5.4. Umsetzung von Glucose mit Glycin in Gegenwart von OPD.	47
6. Versuche mit Pentosen.	47
7. Versuche zum aminkatalysierten Disaccharidabbau.	47
7.1.	
a) Umsetzung der 1-Desoxy-1-piperidinomaltulose <u>63</u> mit OPD.	47
b) Überlegungen zum Reaktionsmechanismus.	48
7.2. Umsetzung der 1-Desoxy-1-propylaminomaltulose <u>70</u> mit OPD.	52
8. Weitere Untersuchungen zum Abbau von Aminoketosen.	52
9. Vergleich des Glucoseabbaus mit dem Aminoketoseabbau.	55
10. Umsetzung von Glucose mit Triäthylamin.	57
11. Zusammenfassung.	58

Experimenteller Teil

I. Allgemeine Angaben.	60
II. Allgemeine Derivatisierungsverfahren.	62
III. Spezielle Arbeitsmethoden.	63
1. Reduktion von Rhamnose.	63
1.1. Alditolacetatverfahren.	63
1.2. Umsetzung von Glucose mit Glycin bei pH 7.	63
2. Metasaccharinsäurelactone als 3-Desoxyosonfolgeprodukte.	63
2.1. Herstellung der Metasaccharinsäurelactone <u>8</u> .	63
2.2. Natriumborhydridreduktion von <u>8</u> .	63
2.3. Umsetzung von Glucose mit Propylamin bei pH 7.	63
2.4. Umsetzung von <u>8</u> mit Propylamin bei pH 7.	63
2.5. Trockenes Erhitzen von <u>8</u> mit Glycin.	63
2.6. Herstellung des Metasaccharinsäurepropylamids <u>13</u> .	64
3. Abfangreaktionen mit OPD	64
3.1. Herstellung des 2,3-Dimethylchinoxalins <u>15</u> .	64
3.2. Isolierung des Chinoxalins der 3-Desoxyhexosulose <u>16</u> .	64
3.3. Fraktionierung von Glucose/Glycin Umsetzungsge- mischen.	64
3.4. Herstellung des 2-formyl-3-methylchinoxalins <u>18</u> .	64

3.5. Umsetzung eines Glucose/Glycin Umsetzungsgemisches mit Bleitetraacetat.	64
3.6. Isolierung von Benzimidazolen aus einem Glucose/Glycin Umsetzungsgemisch.	65
3.7. Synthese der Benzimidazole <u>21</u> bis <u>26</u> .	70
3.8. Umsetzung von Furfural <u>19</u> mit OPD.	70
3.9. Umsetzung von Erythrose <u>50b</u> mit OPD.	71
4. Modellversuche zur C-C Spaltung.	71
4.1. Umsetzung von Phenylglyoxal <u>27</u> mit Piperidin bzw. Propylamin.	71
4.2. Herstellung der Piperidin- bzw. Propyl-amide der Ameisen-,Benzoe-und Mandel-säure.	72
4.3. Umsetzung des Triosereduktions <u>37</u> mit OPD.	72
4.4. Umsetzung einer nach Säurehydrolyse aus <u>49a</u> dem 3-Acetoxy-5,6-O-isopropyliden-2,4-hexandion erhaltenen Verbindung mit OPD.	72
4.5. Herstellung des 2-Hydroxymethyl,3-methylchinoxalins <u>53</u> .	72
4.6. Herstellung des 2-(2'-Hydroxyäthyl)-chinoxalins <u>52</u> .	73
4.7. Umsetzung von Glucose bzw. Glucose/Glycin Reaktionsprodukten mit OPD	73
4.8. Herstellung des Chinoxalins der 4-Desoxyhexosulose <u>57</u> .	73
5. Reaktionen von 1-Desoxy-1-aminofructosen mit OPD.	74
5.1. Umsetzung der 1-Desoxy-1-piperidinofructose <u>59</u> .	74
5.2. Malapradspaltung des Chinoxalins der 1-Desoxyhexosulose <u>17</u> .	75
5.3. Reduktion des 2-formyl-3-methylchinoxalins <u>18</u> zu <u>53</u> .	76
5.4. Herstellung der 1-Desoxy-1-Propylaminofructose <u>60</u> .	77
5.5. Herstellung der 1-Desoxy-1-para-Toluidinofructose <u>61</u> .	77
5.6. Herstellung der 1-Desoxy-1-Tryptophanofructose <u>62</u> .	77
5.7. Umsetzung von <u>60,61</u> und <u>62</u> mit OPD.	77
5.8. Umsetzung von Glucose mit Piperidin bzw. Glycin in Gegenwart von OPD.	78
6. Versuche zum aminkatalysierten Disaccharidabbau.	78
6.1. Umsetzung der 1-Desoxy-1-piperidinomaltulose <u>63</u> mit OPD.	78
6.2. Isolierung des Chinoxalins der 1,4-Didesoxy-1-piperidinohexosulose <u>68</u> .	78



	Seite
6.3. Isolierung des Chinoxalins des 1-Desoxyosons der Maltose <u>67</u> .	79
6.4. Abspaltung des Glucoserests aus <u>67</u> .	80
6.5. Prüfung auf die Bildung des Chinoxalins des 3-Desoxyosons der Maltose <u>69</u> .	81
6.6. Versuch des Nachweises von <u>68</u> , dem Chinoxalin der 1,4-Didesoxy-1-piperidinohexosulose, in 1-Desoxy-1-piperidinofructose/OPD Umsetzungsgemischen.	81
6.7. Herstellung von 1-Desoxy-1-propylaminomaltulose <u>70</u> .	82
6.8. Umsetzung von <u>70</u> mit OPD.	82
6.9. Isolierung des Chinoxalins des 3-Desoxyosons der Maltose <u>69</u> .	82
7. Weitere Untersuchungen zum Abbau von Aminoketosen.	83
7.1. Umsetzungen der 1-Desoxy-1-propylaminofructose <u>60</u> .	83
8. Umsetzung von Glucose mit Triäthylamin.	84
IV. Literaturangaben	85
V. Lebenslauf	88

Theoretischer Teil

=====

A. Einleitung

Zu Beginn dieses Jahrhunderts stellte L.C.Maillard fest, daß reduzierende Zucker in Gegenwart von Aminosäuren unter Braunfärbung abgebaut werden.(1).

Seither ist die nach ihm benannte Maillardreaktion, die auch als nicht enzymatische Bräunung bekannt ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen.

Einhergehend mit der Farbveränderung ist die Bildung von Geschmacks- und Aroma-stoffen (3-5), sowie die Entstehung von Reduktonen und damit stabilisierend wirkenden Verbindungen.(6,7). Man erkannte ferner, daß der ernährungsphysiologische Wert von Lebensmitteln gemindert werden kann. Dies ist z.B. möglich durch den Abbau essentieller Aminosäuren, oder auch deren Einbau in Zuckerumwandlungsprodukte, wodurch die Bioverfügbarkeit nicht mehr gegeben ist.(8,9).

Wenn man sich vorstellt, daß in fast allen Lebensmitteln Aminosäuren, Proteine und Zucker vorkommen, dann läßt sich daraus leicht die Bedeutung der nicht enzymatischen Bräunung für die Lebensmittel-chemie bzw. -technologie ermessen.

Auch aus medizinischer Sicht hat die Maillardreaktion in neuerer Zeit an Bedeutung gewonnen. So wurden toxikologisch wirksame Verbindungen sowohl in bestimmten Lebensmitteln (10), als auch Zucker/Aminosäure Modellumsetzungsgemischen (11) nachgewiesen. Ob in diesem Zusammenhang von gesundheitlicher Beeinträchtigung oder gar Gefährdung durch gewisse thermisch hergestellte bzw. behandelte Lebensmittel gesprochen werden kann muß letztendlich noch geklärt werden.

Man weiß auch, daß die Reaktion von reduzierenden Zuckern mit Aminen im Organismus abläuft und es wird vermutet, daß sie für die Entstehung bestimmter Krankheiten mitverantwortlich sein könnte.(12).

Es besteht also von unterschiedlicher Seite Interesse die verstärkt beim Erhitzen, aber auch bereits bei Raumtemperatur ablaufenden, Veränderungen an Zuckern und Aminen

kennen und verstehen zu lernen.

Im Allgemeinen wird dabei so vorgegangen, daß man die Bedingungen, die beim Erhitzen von Lebensmitteln vorherrschen, in Modellsystemen simuliert. Das heißt, man versucht aus Zucker/Amin Umsetzungsgemischen Verbindungen zu isolieren und zu identifizieren. In der Regel konnten aus Modellumsetzungen gewonnene Verbindungen kurz danach auch in erhitzten Lebensmitteln nachgewiesen werden. Aufgrund derart gewonnener Substanzen werden dann wahrscheinliche Reaktions- bzw. Bildungswege aufgestellt.

Mit dieser Arbeit sollte versucht werden reaktive Zwischenprodukte, die für die Anfangsphase des Zuckerabbaus postuliert wurden, nachzuweisen.

B. Mögliche Reaktionswege für reduzierende Zucker bei der Umsetzung mit Aminen.

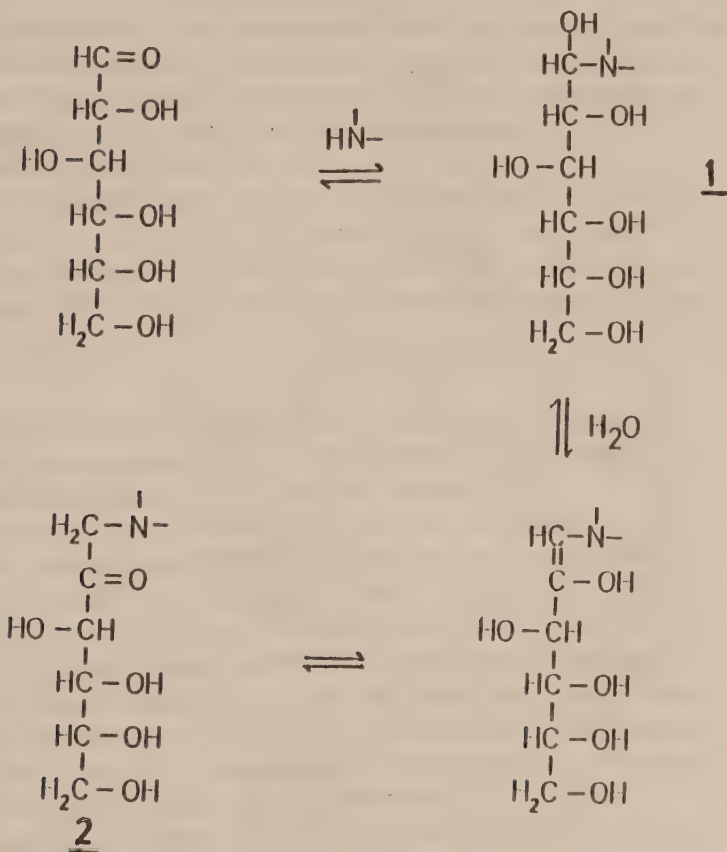
Durch die Reaktion reduzierender Zucker mit primären bzw. sekundären Aminen kommt es zur Bildung einer Vielfalt von Verbindungen. Dabei stellt man sich den Ablauf der Anfangsphase des Zuckerabbaus folgendermaßen vor:

Das Amin addiert sich an die Carbonylfunktion des Zuckers. Es kommt zur Bildung des Glycosylamins 1, das unter Umlagerung zum Aminozyucker 2 weiterreagieren kann. Im Fall von Aldosen spricht man dabei von Amadoriumlagerung, bei Keto- sen von Heyns-Carson Umlagerung. Aminoketosene 2 konnten bereits in verschiedenen Lebensmitteln nachgewiesen werden. (13). Am Beispiel der Glucose ist obige Reaktionsfolge schematisch dargestellt. Die Strukturen sind offenkettig gezeichnet. Dies stellt eine Vereinfachung dar, denn tatsächlich liegen überwiegend die cyclischen Halbacetal- bzw. Halbketal-formen vor. Für Aminoketosene 2 gibt es verschiedene Möglichkeiten der Weiterreaktion. Je nachdem in welche Richtung die Enolisierung erfolgt, kann es anschließend zur Eliminierung der Aminfunktion am C-1, der Sauerstofffunktion am C-3 oder auch am C-4 Atom der Zuckerkette kommen. Durch Tautomerisierung bilden sich dann das 1-Desoxyoson 3, das 1-Amino-4-desoxyoson 4 bzw. das 3-Desoxyoson 5. (14,15). Bisher konnte allerdings nur

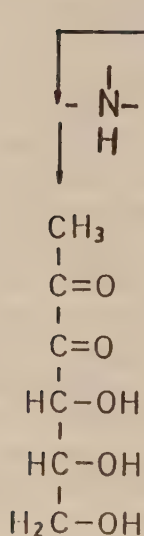
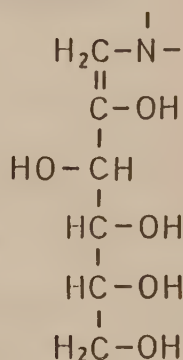
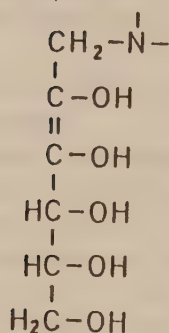
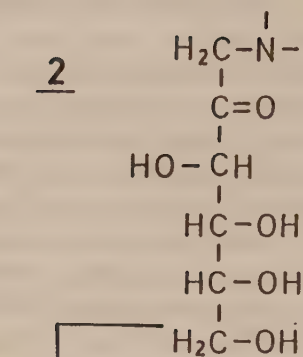
das 3-Desoxyoson 5 in Zucker/Amin Umsetzungsgemischen nachgewiesen werden. (2,24).

Die größte Bedeutung als Zwischenprodukt bei der Maillardreaktion wird hingegen dem 1-Desoxyoson 3 zugeschrieben, weil gerade über dessen Struktur sich die Bildung charakteristischer Produkte die im Verlauf der Maillardreaktion gebildet werden am Besten erklären läßt.

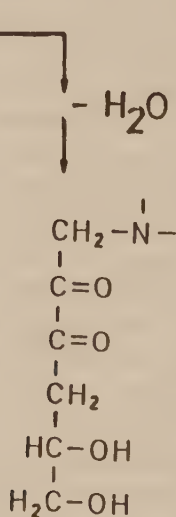
Das Auffinden von 4-Desoxyosonen bzw. 1,4-Didesoxy-1-aminoosonen könnte möglicherweise auf neue, bisher nicht berücksichtigte Wege der nicht enzymatischen Bräunung hinweisen. Nachfolgend werde ich näher auf die einzelnen Abbauege eingehen.



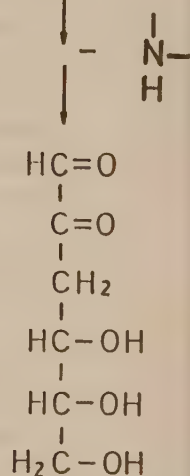
2



3



4



5

C. Untersuchungen zu den einzelnen Abbauwegen.

1.Reduktion von Rhamnose.

Über die reduzierte D (-) Rhamnose 7 wurde versucht Hinweise auf die 1-Desoxyhexosulose 3 in Glucose/Glycin Umsetzungsgemischen zu erhalten. Durch Reduktion der Methylpentose 6 entsteht der Zuckeralkohol 7, welcher mit einem der stereoisomeren Reduktionsprodukte der 1-Desoxyhexosulose identisch ist. (vgl. Formelschema S. 6). Nach Acetylierung läßt sich die Verbindung gut gaschromatographisch nachweisen. (Retentionszeit GC Methode 6: 19.51 Minuten). Die acetylierten Stereoisomere sollten ähnliche Retentionszeiten besitzen.

Mit Hilfe der GC/MS Kopplung konnte im Glucose/Glycin Umsetzungsgemisch nach Reduktion und Acetylierung weder acetyliertes Rhamnitrol 7 noch einer der dazu stereoisomeren, acetylierten Alkohole nachgewiesen werden. Das könnte bedeuten, daß nach erfolgter Maillardreaktion

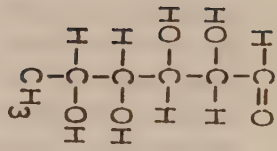
- a) kein 1-Desoxyoson mehr vorhanden ist,
- b) die 1-Desoxyhexosulose in einer Form vorliegt welche durch Natriumborhydrid nicht reduziert wird, oder
- c) die Reduktion zu einem anderen als dem erwarteten Produkt führt, was hieße, daß 3 keine α -Dicarbonylstruktur besitzt.

2.Metasaccharinsäurelactone als 3-Desoxyosonfolgeprodukte.

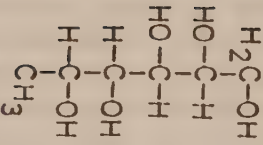
Diese Verbindungen konnten bereits 1978 in Glucose/Glycin Umsetzungsgemischen nachgewiesen werden.(16).

Machell und Richards zeigten, daß die 3-Desoxyhexosulose 5 ein Zwischenprodukt bei der Bildung von Metasaccharinsäurelactonen 8 aus Zuckern darstellt.(17). Die α -Dicarbonylverbindung 5 kann im Sinne einer Benzilsäureumlagerung zur entsprechenden α -Hydroxycarbonsäure reagieren. Dabei bildet sich am C-2 Atom der Zuckerkette ein neues Asymmetriezentrum, sodaß zwei stereoisomere Verbindungen entstehen können. Die Polyhydroxycarbonsäuren cyclisieren spontan zu Lactonen.(vgl. Formelbild S.7).

5-Ringlactone lassen sich mit Natriumborhydrid zu den entsprechenden Alkoholen reduzieren.(19).

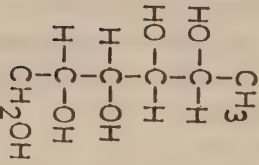


6

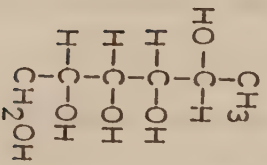


7

≡

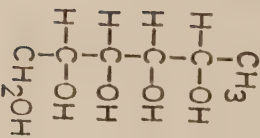
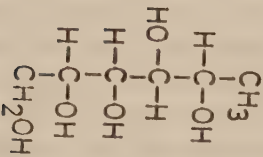


7

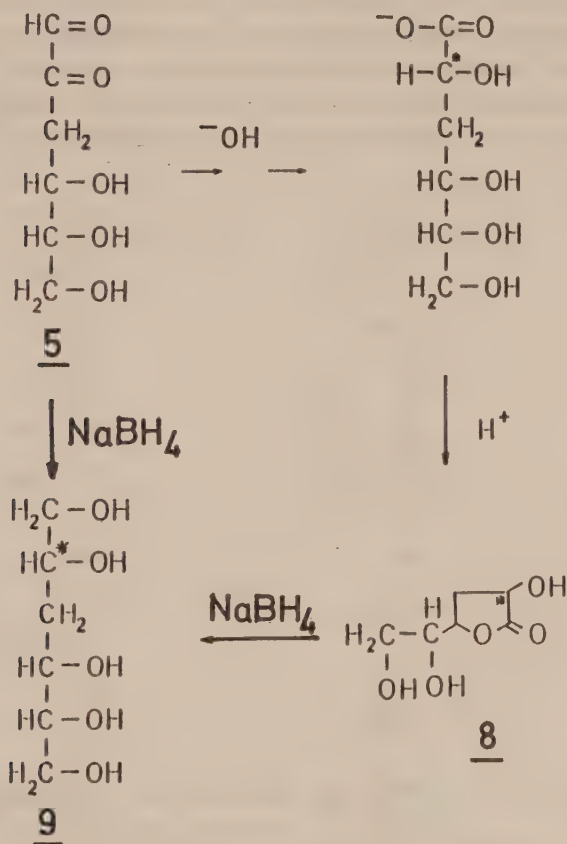


3

Reduktion

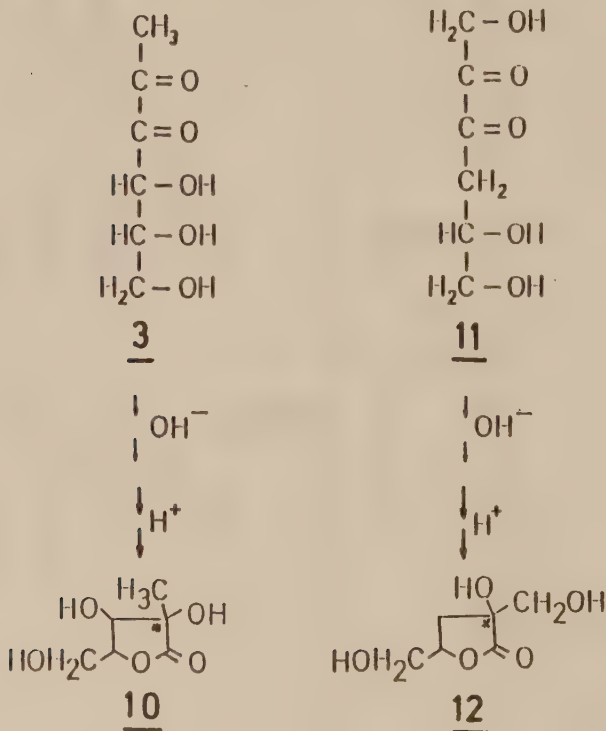


Dabei bildet sich aus 8 die stabile Verbindung 9. Durch Acetylierung erhält man daraus eine flüchtige gut gaschromatographisch bestimmbare Verbindung, die auch als Vergleichssubstanz für die reduzierte und acetylierte 3-Desoxyhexosulose dienen kann. (vgl. Formelschema S.7). (Retentionszeit GC Methode 6: 21.92 Minuten). Durch Reduktion erfaßt man sowohl freie 3-Desoxyhexosulose 5 als auch die Metasaccharinsäurelactone 8. Auf diese Weise ist deshalb keine Aussage darüber möglich ob im Umsetzungsgemisch 5 oder 8 oder beide vorliegen.

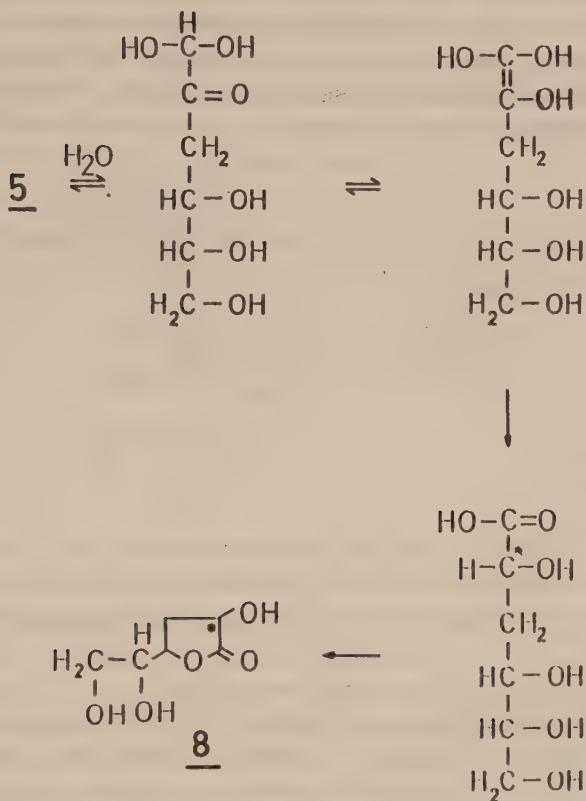


Die Metasaccharinsäuren ließen sich gaschromatographisch sowohl in Form der acetylierten Lactone 8, als auch nach Reduktion, über die acetylierten Alkohole 9 eindeutig in Glucose/Glycin Umsetzungsgemischen identifizieren. Bei den von mir gewählten Bedingungen erfolgte keine Auftrennung der stereoisomeren Verbindungen, sodaß keine Aussage darüber gemacht werden kann ob, bzw. in welchem Verhältnis zueinander, tatsächlich beide Stereoisomere im Reaktionsgemisch vorliegen.

Dagegen konnten weder Saccharinsäurelactone 10 noch Isosaccharinsäurelactone 12 über GC/MS Kopplung nachgewiesen werden. Als Vorstufe für 10 wird das 1-Desoxyoson 3, für 12 die 4-Desoxyhexosulose 11 angegeben. Im basischen Milieu können aus den α -Dicarbonylverbindungen die entsprechenden Lactone gebildet werden. Der Mechanismus entspricht dabei dem einer Benzilsäureumlagerung. (21).



Daß unter den Reaktionsbedingungen bei pH 7 zwar 8, nicht aber 10 und 12, gebildet werden, könnte daran liegen, daß die, dem Typ einer Benzilsäureumlagerung entsprechende Reaktion hier nicht ablaufen kann. Für die Entstehung von 8 aus 5 müßte sich dann ein alternativer Bildungsweg formulieren lassen. So könnte das Hydrat von 5 enolisieren und sich durch anschließende Tautomerisierung in die α -Hydroxycarbonsäure umlagern, welche zu 8 cyclisiert.

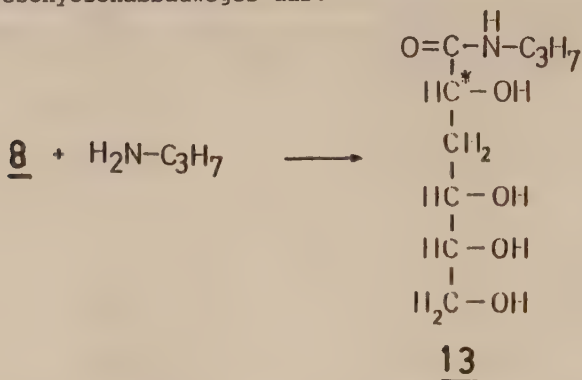


Durch eine analoge Reaktionsfolge kann weder die Bildung von 10 noch 12 formuliert werden.

Stabilität des Metasaccharinsäurelactons bei pH 7.

Nach einstündigem Erhitzen von Glucose mit Propylamin in wäßriger Lösung bei pH 7 konnte im Umsetzungsgemisch kein Metasaccharinsäurepropylamid identifiziert werden, wohl aber des Lacton 8 selbst.

Als Kontrollversuch setzte ich 8 mit Propylamin in wäßriger Lösung unter analogen Bedingungen um. Auch hierbei ist innerhalb einer Stunde kein Amid entstanden. Erst unter drastischeren Bedingungen, d.h. beim Erhitzen des Lactons z.B. mit Glycin bei 130°C kommt es zur Bildung von Folgeprodukten. Das bedeutet: Metasaccharinsäurelactone stellen in Glucose/Amin Umsetzungsgemischen bei pH 7 in wäßriger Lösung und einstündigem Erhitzen recht stabile Endprodukte des 3-Desoxyosonabbauweges dar.

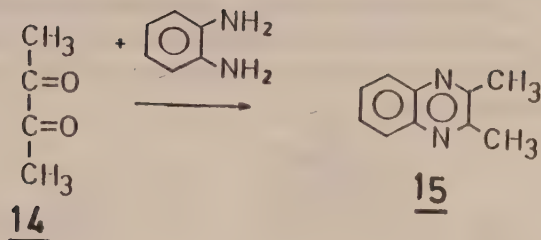


Verbindung 13 stellte ich mir durch Umsetzung von 8 mit überschüssigem Propylamin her. Das Amin fungierte zum einen als Reaktionspartner zum anderen als Lösungsmittel.

3. Abfangreaktion mit o-Phenylendiamin (OPD).

1,2 Dicarbonylverbindungen reagieren mit OPD zum heterocyclischen Chinoxalinsystem. Dieses Verfahren verwendeten Morita und Mitarbeiter um die unter sauren bzw. basischen Bedingungen aus Zuckern gebildeten α -Dicarbonylverbindungen in stabile Derivate zu überführen. (29-34).

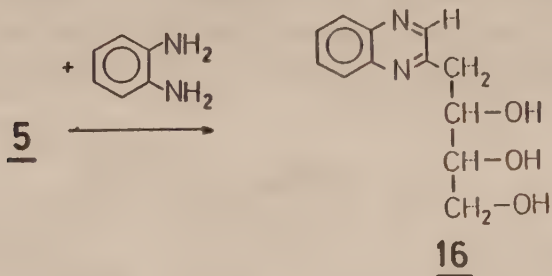
Durch Umsetzung von Diacetyl 14 mit OPD testete ich diese Abfangreaktion. Wie beschrieben (60) bilden sich durch die Reaktion von OPD mit 1,2 Dicarbonylverbindungen in nahezu quantitativer Ausbeute die entsprechenden Chinoxaline, in diesem Fall das 2,3-Dimethylchinoxalin 15.



OPD stellt ein optimales Abfangreagens für vicinale Dicarboxonylverbindungen dar.

Die 3-Desoxyhexosulose 5 wurde 1983 vom Arbeitskreis Morita in einem Glucose/OPD Umsetzungsgemisch bei pH 10 erstmals als Chinoxalinderivat abgefangen. (34).

Ich setzte synthetisierte 3-Desoxyhexosulose (35) in wäßriger Lösung bei pH 7 mit OPD um. Aus dem Reaktionsgemisch konnte ich das entsprechende Chinoxalin 16 isolieren.



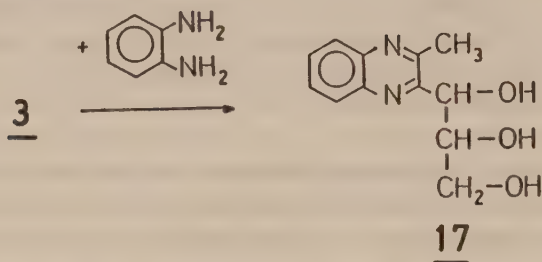
Nach Acetylierung läßt sich 16 gut gaschromatographisch bestimmen. (Retentionszeit GC Methode 6: 27.16 Minuten).

Mit Hilfe dieser Substanz konnte ich Glucose/Glycin Umsetzungsgemische analysieren. Verbindung 16 ließ sich tatsächlich in Glucose/Glycin Reaktionsgemischen nach anschließender Umsetzung mit OPD eindeutig nachweisen.

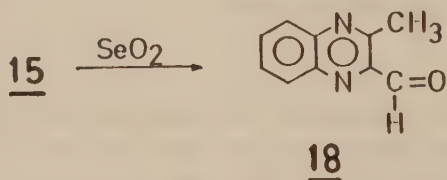
Durch HPLC Trennung von Glucose/Glycin Umsetzungsgemischen erhielt ich Fraktionen, welche nach Umsetzung mit OPD dünn-schichtchromatographisch, bzw. nach anschließender Acetylierung gaschromatographisch auf das Chinoxalin der 3-Desoxyhexosulose untersucht wurden.

Aufgrund ähnlicher Polarität der 1- und 3-Desoxyhexosulose 3 und 5 sollte das Chinoxalin der 1-Desoxyhexosulose 17 in der selben Fraktion zu finden sein.

Es ließ sich allerdings kein Hinweis auf 17, in einer der Fraktionen, finden.



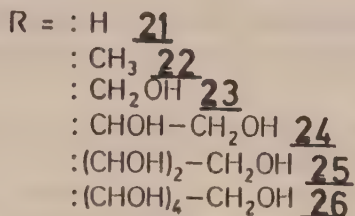
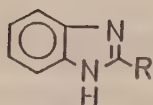
Da mir die Vergleichssubstanz 17 nicht zur Verfügung stand, versuchte ich den Nachweis über deren Glycolspaltprodukt, das 2-Formyl-3-methylchinoxalin 18 zu führen. 18 kann aus dem 2,3-Dimethylchinoxalin 15 durch Selendioxidoxidation hergestellt werden. Die Verbindung ist flüchtig genug um direkt gaschromatographisch bestimmt werden zu können. (Retentionszeit GC Methode 6: 11.81 Minuten)



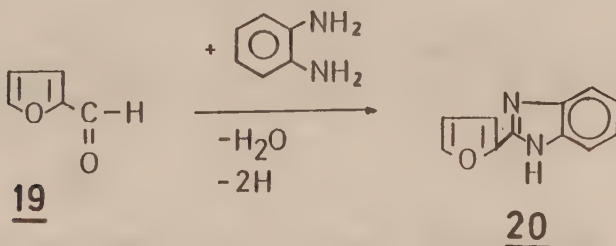
Nach Umsetzung jeweils eines Teils der in Frage kommenden Fraktionen mit Bleitetraacetat war 18 allerdings nicht nachweisbar.

Stattdessen konnte ich aus diesen Fraktionen eine ganze Reihe von Benzimidazolen isolieren und über die synthetisierten Vergleichssubstanzen identifizieren. Bei fast allen gefundenen Benzimidazolen handelt es sich um solche mit verkürzter Zuckerkohlenstoffkette.

Identifiziert wurden die Benzimidazole der Ameisensäure 21, Essigsäure 22, Glycolsäure 23, Glycerinsäure 24, Erythronsäure 25 und Gluconsäure 26.



Aus den Strukturen dieser Verbindungen könnte auf die entsprechenden Carbonsäuren als Zuckerumwandlungsprodukte geschlossen werden. Doch nicht nur freie Carbonsäuren, sondern auch deren Derivate können als Vorstufen fungieren. (36). So ist z.B. bekannt, daß Säureamide bei der Maillardreaktion entstehen. (41). Nicht auszuschliessen ist auch die Reaktion des OPD mit den jeweiligen Aldehyden zu Dihydrobenzimidazolen und deren Oxidation zu den Benzimidazolen. (36). Als Modellversuch hierfür setzte ich OPD mit Furfural 19 um und erhielt in guter Ausbeute das Benzimidazol der Furan-2-Carbonsäure 20.



Auch bei der Reaktion von Erythrose mit OPD bildet sich als eines der Hauptprodukte das Benzimidazol der Erythronsäure 25. (vgl. 4.2.3.).

Als weitere Bildungsmöglichkeit kommt die Reaktion von OPD mit reaktiven Zwischenprodukten der Maillardreaktion unter C-C Spaltung in Frage.

Durch Modellreaktionen versuchte ich Näheres über eventuelle Bildungsmöglichkeiten von Benzimidazolen bzw. deren Vorstufen zu erfahren.

4. Modellversuche und theoretische Überlegungen zur C-C Spaltung bei pH 7 in Gegenwart von Aminen.

4.1.

a) Umsetzung der α -Dicarbonylverbindung Phenylglyoxal 27 mit Aminen.

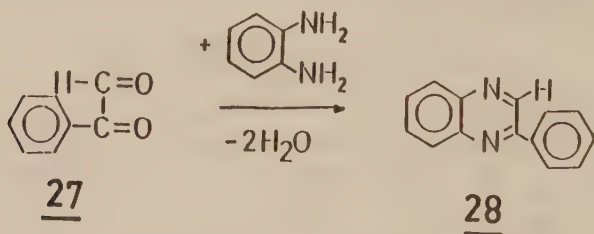
Phenylglyoxal wurde u.a. deshalb gewählt, weil es keine Möglichkeit hat sich durch Enolisierung in eine vinyloge Carbonsäure oder ein Redukton umzulagern.

Es ist bekannt, daß Phenylglyoxal 27 mit OPD zum entsprechenden 2-Phenylchinoxalin 28 reagiert. (61).

Durch Umsetzung von 27 mit Methylamin in wäßriger Lösung bei 50 bis 60 °C bildet sich angeblich 3-Methoxy-2,5-diphenylpyrazin (62).

Beim Erhitzen von 27 mit Glycin bzw. Alanin in wäßriger Lösung unter Rückfluß kommt es zur Bildung von Ammoniak, Kohlendioxid sowie Formaldehyd bzw. Acetaldehyd also typischen Streckerabbauprodukten der Aminosäuren. (63).

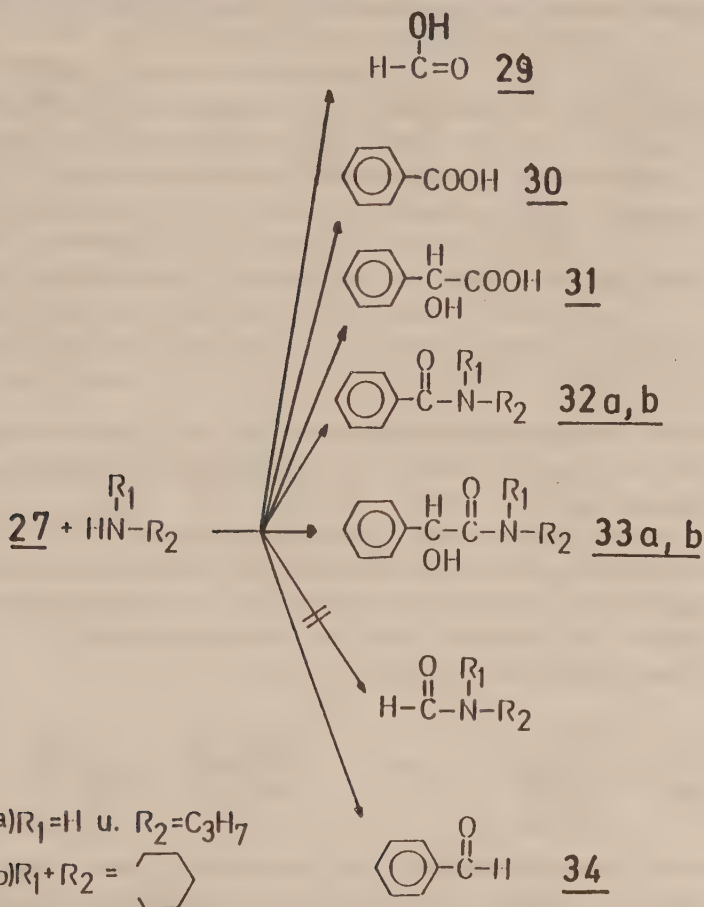
Die Reaktion von 27 mit Ammoniak führt zur Bildung von 3-Oxy-2,5-diphenylpyrazin. (64,65).



Die Umsetzungen mit Propylamin als primärem und Piperidin als sekundärem Amin erfolgten in wäßriger Lösung, gepuffert bei pH 7 und zwar sowohl im Äroben als auch unter Stickstoffatmosphäre. Die Ergebnisse waren in beiden Fällen vergleichbar. Es wurden Umlagerungs-, C-C Spaltungs-, Additions- und Red-ox- Reaktionen beobachtet.

Durch gaschromatographische Untersuchung an zwei verschiedenen Kapillarsäulen (Methode A und B) konnten durch Vergleich der Peakretentionszeiten mit Hilfe synthetisierter Vergleichssubstanzen die Verbindungen 29 bis 34 identifiziert werden. Es wurde dagegen kein Amid der Ameisensäure gefunden.

Abgesichert wurden die Befunde durch Überprüfung mit Hilfe der GC/MS Kopplung.



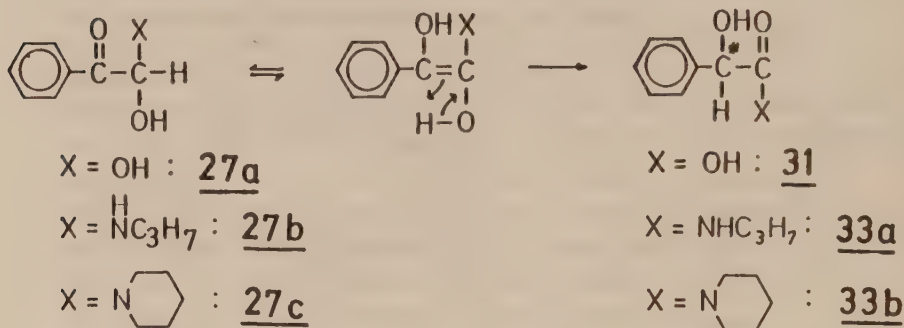
Die Reaktion von 27 zu Mandelsäure 31 im basischen Milieu unter Einwirkung starker Alkalien ist bekannt. Der Mechanismus entspricht dem einer intramolekularen Cannizzaroreaktion. (66,67).

Dagegen erfolgte die Bildung von 31 hier unter wesentlich milderen Bedingungen bei pH 7.

b) Theoretische Betrachtungen zur Bildung der Mandelsäure 31 sowie deren Amide 33a und 33b.

Phenylglyoxal liegt in wäßriger Lösung als Hydrat vor 27a. Bei der Umsetzung mit den entsprechenden Aminen könnte eine Hydroxylgruppe durch Propylamin bzw. Piperidin substituiert werden. Man erhält dann die Verbindungen 27b für X = propylamino und 27c für X = piperidinyll.

Durch Enolisierung und anschließende Tautomerisierung kommt es dann zur Bildung von 31 bzw. 33a und 33b.

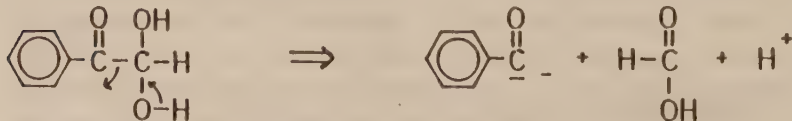


Dieser Mechanismus erscheint mir bei pH 7 wahrscheinlicher als der einer Hydridwanderung, vergleichbar einer Benzilsäureumlagerung.

c) Überlegungen zu C-C Spaltungsreaktionen.

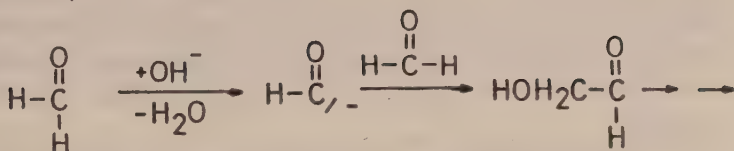
Betrachtet man die Spaltprodukte des Phenylglyoxals also die Säuren und Amide, so bietet sich als zweites Spaltprodukt ein Acylanion oder ein Synthion dafür an.

Formal betrachtet sieht das so aus: z.B.



Es ist bekannt, daß sich aus Formaldehyd unter Einwirkung von Laugen ein Gemisch von Kohlenhydraten unterschiedlicher Kettenlänge bildet. Die C-C Knüpfung stellt man sich folgendermassen vor. Deprotonierte Formaldehydmoleküle (Acylanionen) addieren sich an Carbonylgruppen z.B. des

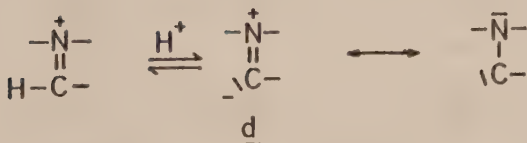
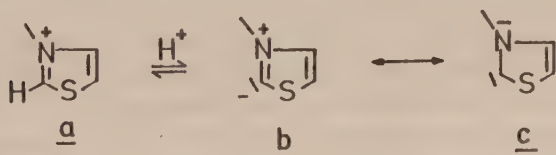
Formaldehyds (59).



Das heißt: nicht enolisierbare Aldehyde sind mit geeigneten Basen z.T. am Carbonyl-C-Atom deprotonierbar (umpolbar).

Acylianionen stellen allerdings keine guten Abgangsgruppen dar und sind deshalb wohl nicht so leicht durch Eliminierungsreaktionen abspaltbar.

Andererseits kennt man das Reaktionsverhalten von Thiazoliumsalzen der allgemeinen Struktur a (42,44): " Diese stehen unter bestimmten pH Bedingungen im Gleichgewicht mit den Anionen am C-2-Atom (Ylidstruktur) b. Vom Vitamin B-1 weis man, daß solche Strukturen relativ stabil sind. Für das Thiazoliumzwitterion b läßt sich eine mesomere Grenzstruktur (Carbenstruktur) c formulieren. Strukturell ist b dem Anion einer Immoniumverbindung d ähnlich. " (42).



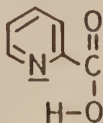
Das Zwitterion d stellt ein Synthon für ein Acylanion dar, sollte aber eine bessere, da stabilisiertere, Abgangsgruppe sein und könnte eine wichtige Rolle bei der C-C Spaltung von α -Dicarbonylverbindungen in Gegenwart von Aminen spielen.

" Es ist auch bekannt, daß Anionen von Kohlenstoffatomen die über Dreifachbindungen verknüpft sind relativ stabil sind. Die Acidität von Acetylen und Blausäure liefern Beispiele dafür. Verantwortlich für dieses Verhalten wird der zunehmende s-Charakter der C-H Bindung im Vergleich zum gesättigten Kohlenstoffatom gemacht. Für die Anionen lassen sich mesomere Grenzstrukturen, welche Carbencharakter haben, formulieren.



Diese Mesomerie könnte ebenfalls zur Stabilisierung solcher Anionen beitragen. Daß Blausäure acider ist als Acetylen ist wohl auf die größere Elektronegativität des Stickstoffs im Vergleich zum Kohlenstoff zurückzuführen. Sowohl der I-Effekt als auch die Möglichkeit die ganze negative Ladung zu übernehmen und damit die Carbenform auszubilden stabilisieren das Anion. " (42).

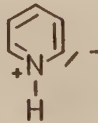
Hammick zeigte (43), daß α -Picolinsäure 35 rasch decarboxyliert. Seine Studien über den Einfluß des pH Wertes auf die Reaktion führten zu dem Ergebnis, daß das Zwischenprodukt nicht einfach das Anion e ist, sondern vielmehr das dipolare Ion f.



35



e



f

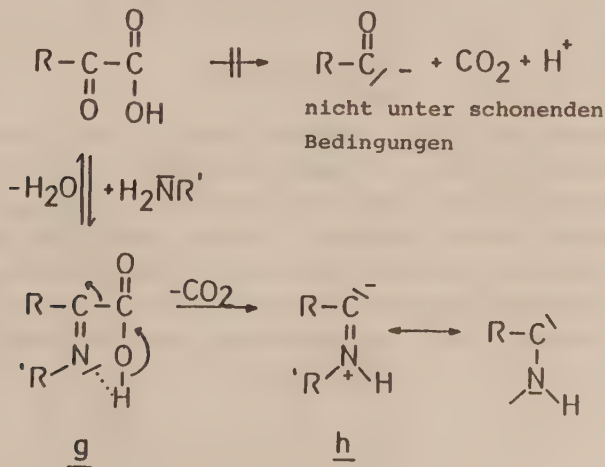
Quaternisierung des Stickstoffs führt zu Verbindungen die besonders leicht decarboxylieren. Die Stabilität eines Anions an einer Doppelbindung scheint merklich durch den induktiven Effekt des positiv geladenen Stickstoffs unterstützt zu werden (Struktur h). (42).

Ähnliche Gründe könnten auch die Decarboxylierung Schiff-scher Basen von α -Ketocarbonsäuren, welche keine Möglichkeit der Tautomerisierung haben (Struktur g), erklären.

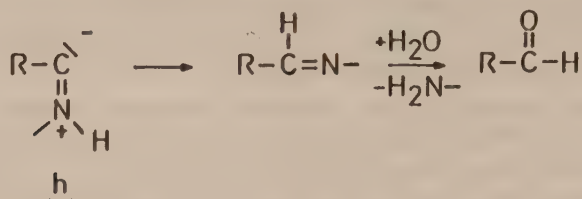
Langenbeck, Hutschenreuther und Jüttemann beschreiben eine Reaktion bei der α -Ketosäuren in Aldehyde und Kohlendioxid gespalten werden. Die Reaktion beruht auf der Bildung substituierter Iminosäuren (g) aus denen Kohlendioxid abgespalten wird. Durch Hydrolyse des entstehenden Aldehydimins bildet sich der entsprechende Aldehyd. (45,46).

Auch hier wird vermutlich ein Anion, an einem über eine Doppelbindung verknüpftem C-Atom, gebildet (Struktur h) wobei der protonierte Stickstoff durch seinen I-Effekt seinen Beitrag zur Stabilisierung leistet. (42).

α -Ketocarbonsäuren selbst decarboxylieren nicht so leicht. Dies liegt möglicherweise daran, daß der Sauerstoff der Ketogruppe nicht so leicht protoniert wird. Durch Kohlendioxidabspaltung kann dann kein stabilisiertes Zwitterion gebildet werden. (42). Hieraus läßt sich ableiten, daß Acylanionen nicht leicht aus Molekülen eliminiert werden, daß C-C Spaltungen aber ablaufen können, wenn sich aus der Carbonylfunktion die Immoniumverbindung bildet.

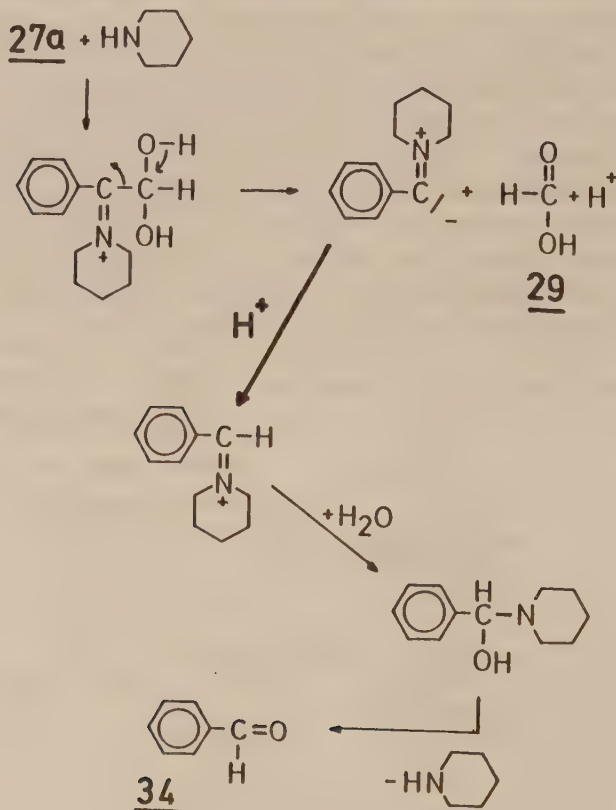


Das Zwitterion h stabilisiert sich zum Imin, aus dem durch Hydrolyse der entsprechende Aldehyd entsteht.

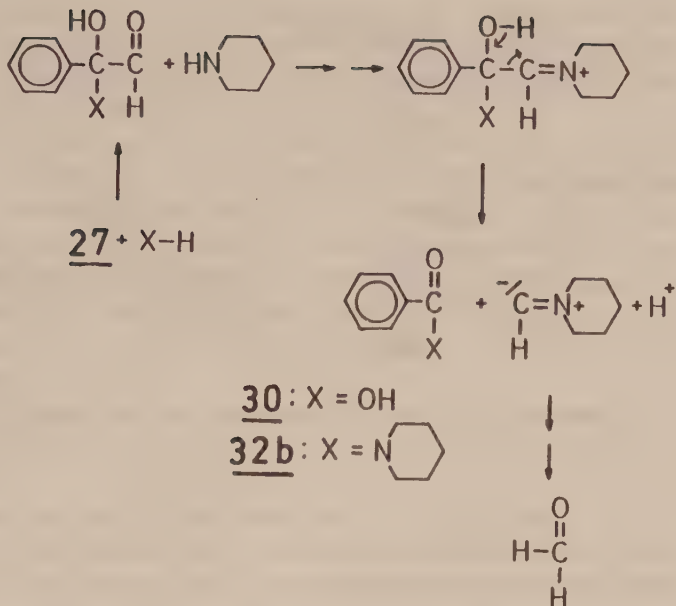


Überträgt man diese Betrachtungsweise der Fragmentierung auf die Spaltung des Phenylglyoxals, dann sieht die Produktbildung mit Piperidin folgendermassen aus. Durch Reaktion des sekundären Amins mit einer der Carbonylgruppen bildet sich die entsprechende Immoniumverbindung. (vgl. Formelbild I. bzw. II.), die unter C-C Spaltung weiterreagiert.

I.

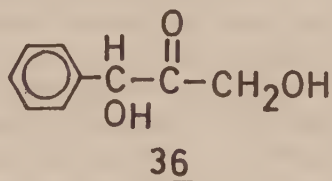


II.



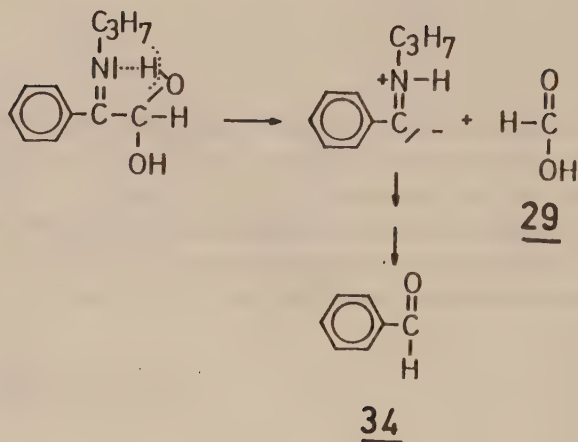
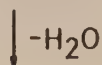
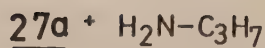
Formaldehyd wurde zwar nicht direkt nachgewiesen, doch ist seine Bildung wahrscheinlich, da Produkte durch MS Interpretation identifiziert wurden bei denen die Kohlenstoffkette des Phenylglyoxals um eine C-Einheit verlängert war.

Z.B. 36 :

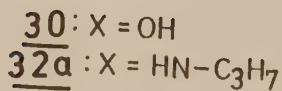
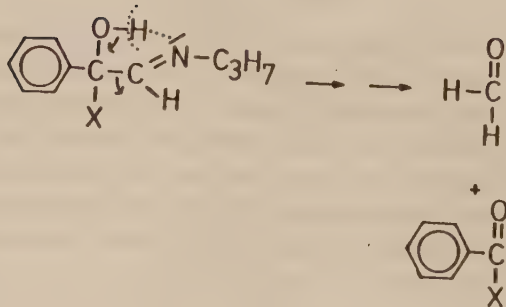
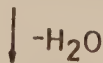
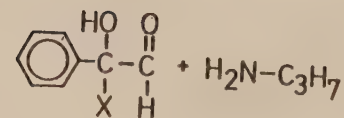
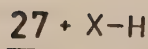


Die Reaktion eines primären Amins mit einer der Carbonylgruppen führt zur Bildung des jeweiligen Imins. Das freie Elektronenpaar am Stickstoff kann das Proton der benachbarten Hydroxylgruppe lockern. Womöglich handelt es sich bei der nachfolgenden C-C Spaltung und der Bildung des Zwitterions unter Wanderung des Protons vom Sauerstoff zum Stickstoff um einen Synchronprozeß. (Vgl. Formelbilder III. und IV. S. 22).

III.



IV.



Es waren jedoch keine Ameisensäureamide nachweisbar. Der Grund dafür könnte sein, daß die Enolisierungs- und Umlagerungsreaktionen schneller ablaufen als die C-C Spaltungen. (vgl. 4.1.b).

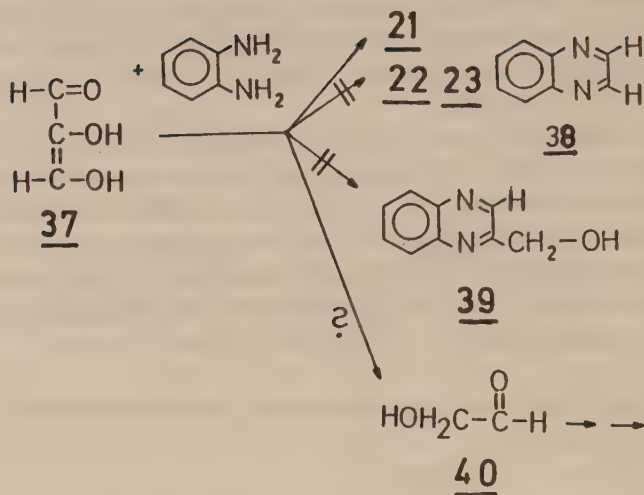
Nach dem hier formulierten Mechanismus bedingt die Bildung eines Aldehyds im Gegenzug die Entstehung eines Amids oder einer Carbonsäure als zweitem Spaltprodukt. Es wird Benzaldehyd gefunden, aber keine Ameisensäureamide. D.h., es muß Ameisensäure direkt entstanden sein. Nicht auszuschließen ist auch, daß die entstehenden Aldehyde teilweise zu den entsprechenden Carbonsäuren oxidiert werden.

4.2. Reaktionen von Verbindungen mit Reduktonstruktur mit OPD bei pH 7.

4.2.1.

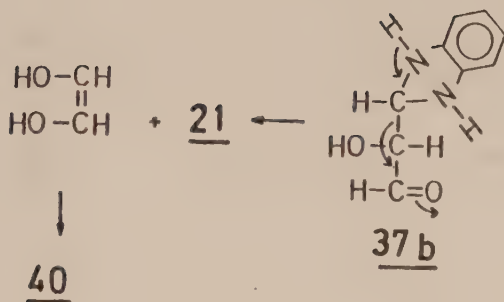
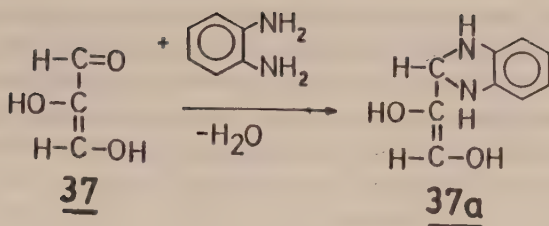
a) Umsetzung des Triosereduktions 37 (6) mit OPD.

37 wurde mit OPD bei pH 7 in wäßriger Lösung erhitzt. Nach einer Stunde hatte sich an der Wasseroberfläche ein brauner, zäher Klumpen eines Polymerisierungsproduktes gebildet. Als gaschromatographisch bestimmbares Hauptprodukt konnte nach Acetylierung das Benzimidazol der Ameisensäure 21 identifiziert werden. Aufgrund fehlender Peaks mit entsprechenden Retentionszeiten konnte die Bildung von Chinoxalin 38 und der Benzimidazole von C-2 Körpern 22, 23 ausgeschlossen werden. Es wurde auch kein 2-Hydroxymethylchinoxalin 39 bzw. das Benzimidazol der Glycerinsäure 24 gebildet. Das heißt, daß das Redukton unter Aufspaltung in ein C-1 und ein C-2 Bruchstück abgebaut wurde. Das C-2 Spaltprodukt konnte durch die Abfangreaktion mit OPD nicht erfaßt werden. Womöglich handelt es sich dabei um Glycolaldehyd 40, welcher unter Polymerisierung weiterreagiert bevor er von OPD abgefangen werden kann. Es ist offensichtlich, daß Reduktone nicht als α -Dicarbonylverbindungen reagieren. Das heißt, Verbindungen mit Reduktonstruktur können mit OPD nicht in Derivate mit intakter Kohlenstoffkette überführt werden. Sie reagieren wenigstens teilweise unter Fragmentierung.



b) Überlegungen zum Reaktionsmechanismus.

OPD addiert sich mit einer Aminogruppe an das Triosereduktion 37. Ob der Angriff an der Carbonylgruppe selbst, oder am β -C-Atom der α, β ungesättigten Carbonylverbindung, erfolgt ist aufgrund der Symmetrie des Moleküls (potentielle 1,3 Dicarbonylstruktur) ohne Auswirkung auf die Produktbildung. Durch einen intramolekularen Angriff der zweiten Aminogruppe kann es dann unter Wasserabspaltung zur Bildung der Dihydrobenzimidazolstruktur 37a kommen. Infolgedessen verliert die Endiolstruktur ihre Mesomeriestabilisierung und tautomerisiert zur Carbonylfunktion 37b. Die Aromatisierung zum Benzimidazolsystem muß dann nicht durch Wasserstoffabgabe, sondern kann auch unter C-C Spaltung, erfolgen. Begünstigt durch den Elektronen zug der β -ständigen Aldehydfunktion bildet sich unter Abspaltung des Benzimidazols 21 das Endiol das zu 40 tautomerisieren kann.



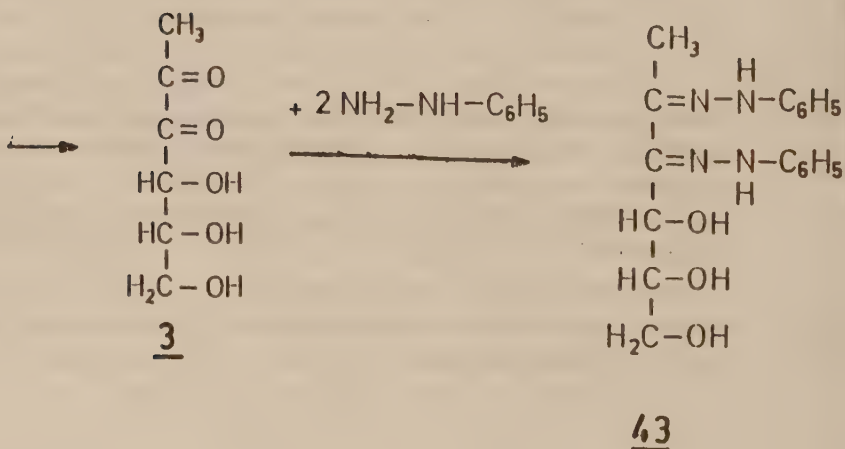
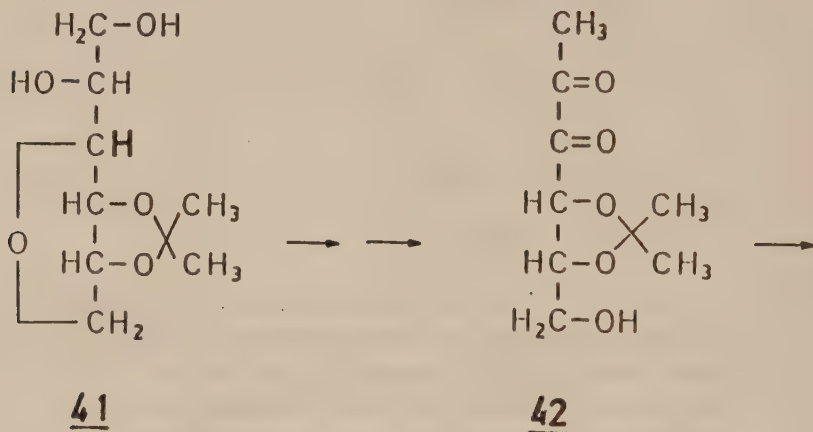
4.2.2.

a) Umsetzung einer nach Säurehydrolyse aus 49a, dem 3-Acetoxy-5,6-O-isopropyliden-2,4-hexandion erhaltenen Verbindung mit OPD.

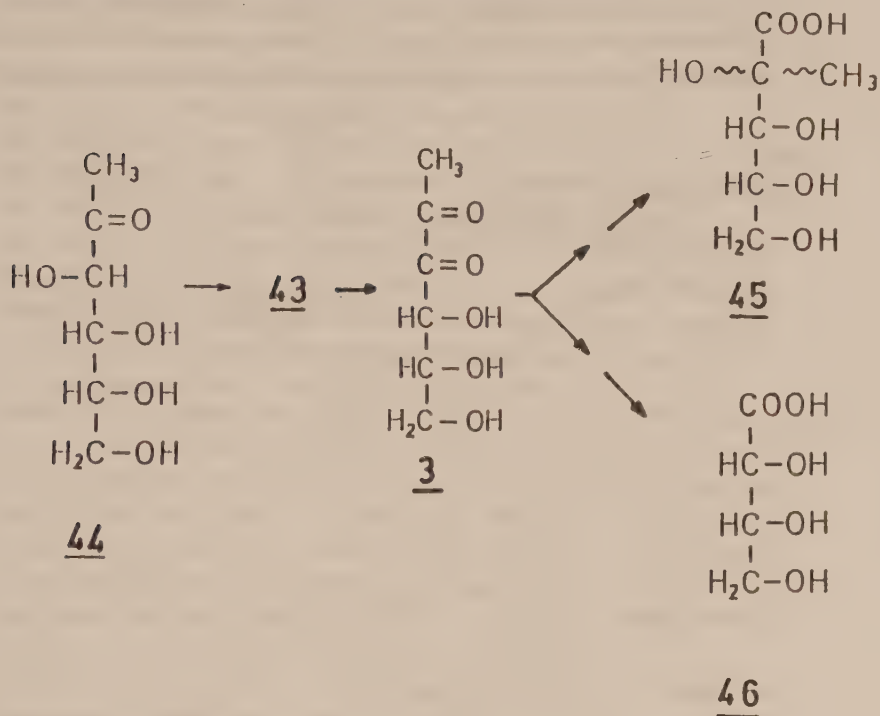
Es sind mehrere Versuche bekannt Verbindung 3 zu synthetisieren.

So erhielten Fisher und Mitarbeiter, ausgehend von 3,6-Anhydro-4,5-O-isopropyliden-D-mannitol 41, kristalline 1-Deoxy-4,5-O-isopropyliden-D-erythro-2,3-hexodiulose 42. Nach

Abspaltung der Schutzgruppe unter sauren Bedingungen war es ihnen nicht möglich eine stabile Verbindung der Struktur 3 zu isolieren. Sie setzten deshalb eine Lösung von 42 mit Phenylhydrazin um und erhielten das Bishydrazon 43 über dessen Struktur sie indirekt 3 nachweisen konnten. (58).

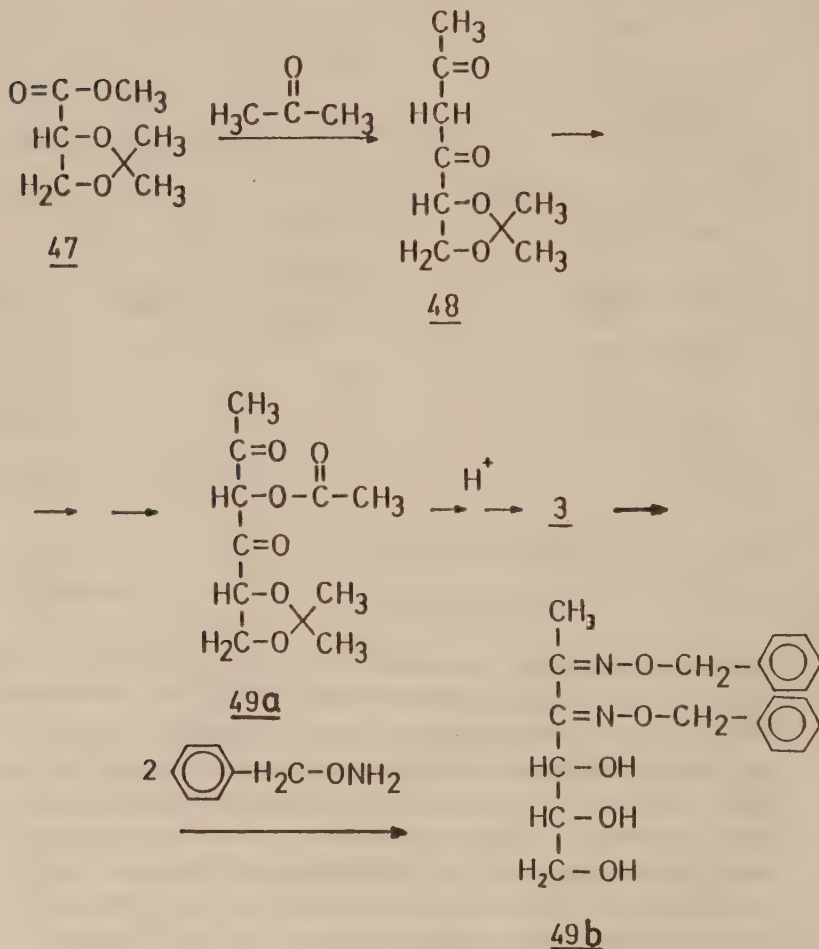


Theander stellte mit seiner Arbeitsgruppe das Phenylsazon 43 aus 1-Desoxyfructose 44 her. Durch Hydrolyse von 43 mit salpetriger Säure erhielten sie Verbindung 3 in Lösung, deren Existenz sie durch Bildung von Folgeprodukten indirekt beweisen konnten. Nach alkalischer Behandlung dieser Lösung bei Raumtemperatur konnten sie Saccharinsäure 45 und Erythrinsäure 46 nachweisen. (57).



Für meine Umsetzung verwendete ich eine in unserem Arbeitskreis von Habernegg synthetisierte Verbindung. Sie setzte den isopropylidengeschützten Glycerinsäuremethylester 47 mit Aceton zum entsprechenden Kondensationsprodukt 48 um. Bromierung der 1,3 Dicarbonylverbindung 48 und anschließende Substitution des Halogens durch eine Acetoxygruppe führte zur Verbindung 49a. Abspaltung der Isopropylidenschutzgruppe und Acetatenspaltung erfolgte durch Umsetzung mit Oxalsäure. Nach Hydrolyse setzte sie die Lösung mit

O-Benzyl-hydroxylamin um. Aus dem Umsetzungsgemisch isolierte sie eine Verbindung der sie nach Interpretation des $^1\text{H-NMR}$ Spektrums die Struktur 49b zuordnete. Das Massenspektrum der acetylierten Verbindung zeigte einen Molekülpeak bei 498 Masseneinheiten (entsprechend der Molekülmasse der peracetylierten Verbindung 49b). Aufgrund dieser Spektraldaten nahmen wir an, daß es sich bei der durch Säurehydrolyse aus 49a gebildeten Verbindung um die 1-Desoxyhexosulose handelte. (47). Diese in saurer Lösung vorliegende Verbindung verwendete ich für meine Untersuchungen.



Ich setzte 1,5 mMol der Verbindung 49a mit wäßriger Oxalsäurelösung um. Dabei sollten die Schutzgruppen abgespalten werden. Nach Zugabe von 3 mMol OPD wurde der pH Wert dieser Lösung mit Phosphatpufferlösung auf 7 eingestellt. Diese Lösung wurde dann eine Stunde unter Rückfluß erhitzt. Die Umsetzung in Gegenwart von OPD wurde auch bei den pH Werten 4 und 5,5 durchgeführt. Die Gaschromatogramme der acetylierten Ansätze zeigten, daß im Wesentlichen die selbe Produktpalette gebildet wurde. Durch GC/MS Kopplung konnten folgende Verbindungen identifiziert werden:

das Benzimidazol der Essigsäure 22,

das 2-(1',2'-Dihydroxyäthyl-)chinoxalin 51, sowie

das Chinoxalin des 3-Desoxyosons der Erythrose 52, als auch das Chinoxalin des 1-Desoxyosons der Erythrose 53, das mit dem des 4-Desoxyosons der Erythrose identisch ist.

Als Vergleichssubstanz für 53 diente die reduzierte Verbindung 18, für 52 das reduzierte Glycolspaltprodukt von 16.

Auch hier konnte mangels Peaks mit entsprechenden Retentionszeiten die Entstehung von OPD Abfangprodukten mit C-6 Kohlenstoffkette ausgeschlossen werden.

Dies deutet darauf hin, daß es sich bei der mit OPD umgesetzten Verbindung um keine α -Dicarbonylverbindung gehandelt hat.

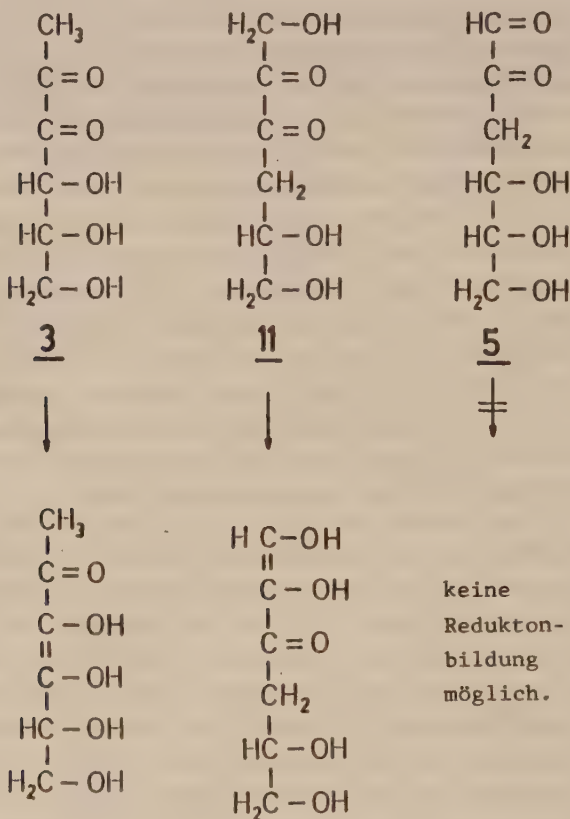
Möglicherweise hat hier eine Verbindung die Reduktonstruktur besitzt mit OPD unter C-C Spaltung reagiert. Es könnte sich dabei um das Redukton gehandelt haben das aus Verbindung 3 durch Enolisierung entstehen kann (vgl. Formelbild S.30). Das Reaktionsverhalten dieser Verbindung OPD gegenüber ist vergleichbar dem des Triosereduktions (vgl. 4.2.1.).

Dies wäre ein weiterer Hinweis dafür, daß Verbindungen mit Reduktonstruktur durch Reaktion mit OPD zu keinen Derivaten mit intakter Kohlenstoffkettenlänge führen. Aufgrund dessen ist es nicht verwunderlich, daß man in Glucose/Glycin Umsetzungsgemischen die anschließend mit OPD umgesetzt wurden kein Chinoxalin der 1-Desoxyhexosulose 17 und 4-Desoxyhexosulose 57 findet. Denn im Gegensatz zur 3-Desoxyhexosulose 5 kann sich sowohl die 1-Desoxyhexosulose 3 als auch die 4-Desoxyhexosulose 11 durch Enolisierung zum Redukton stabilisieren. (vgl. Formelbild S. 30).

b) Überlegungen zum Reaktionsmechanismus.

Da weder Chinoxaline noch Benzimidazole von C-3 Körpern identifiziert werden konnten, scheint obige Umsetzung mit OPD

nur zu C-2 und C-4 Bruchstücken zu führen. Aus der gebildeten Produktpalette läßt sich ableiten, daß der Angriff von OPD am C-2 Atom der Zuckerkette erfolgt. (vgl. Formelschema S.32).



Die Spaltung wurde analog dem Abbau des Triosereduktions formuliert. Als C-C Spaltprodukte bilden sich dabei das Benzimidazol der Essigsäure 22 einerseits und die Enolform der Erythrose bzw. Threose 50a andererseits. Die Endiolform 50a wird zum Teil zur α -Dicarbonylverbindung aufoxidiert, welche mit OPD zum Chinoxalin 51 reagiert. Es erfolgt wohl keine Tautomerisierung zurück zur Aldose, da kein Benzimidazol der C-4 Zuckersäure 25 zu finden ist (vgl. 4.3.).

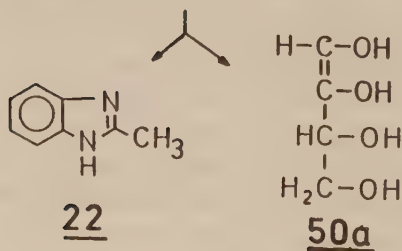
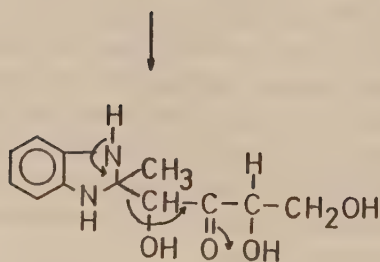
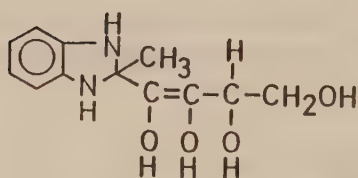
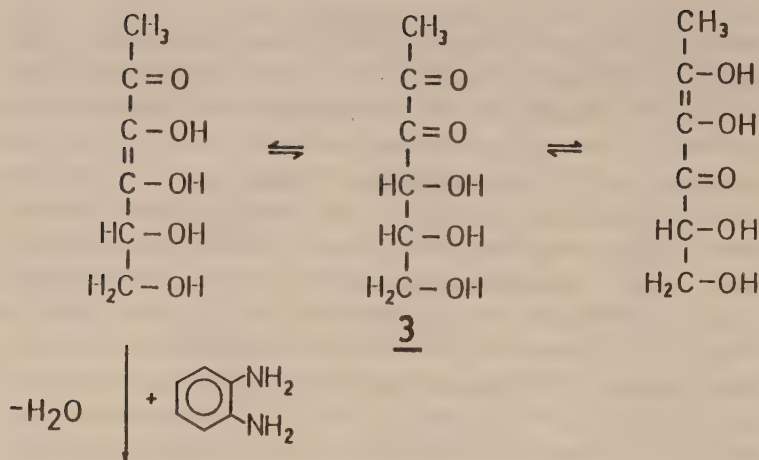
Zum anderen kommt es durch Reaktion des C-4 Körpers mit OPD als primärem Amin zum aminkatalysierten Zuckerabbau. Die während der Reaktion gebildeten 1,2 Dicarbonylverbindungen werden von OPD, in seiner zweiten Funktion als Abfangreagens, in stabile Chinoxalinderivate überführt. Wie aus dem Formelbild (S.33) zu ersehen ist liegen die 1- bzw. 4-Desoxyosone, die ohne Markierung bei Tetrosen nicht voneinander zu unterscheiden sind zum Zeitpunkt ihrer Entstehung als 1,2 Dicarbonylverbindungen vor. Und hier bewährt sich die Abfangeigenschaft des OPD. Bevor nämlich die Enolisierung zum Redukton erfolgt reagiert das 1,2 Diamin schon unter Fixierung der vicinalen Dicarbonylstruktur zum Chinoxalin. Das bedeutet, daß die Abfangreaktion mit OPD nur dann Aufschluß über Reaktionswege beim Kohlenhydratabbau geben kann, wenn das Abfangreagens bereits zu Beginn der Reaktion zugesetzt wird.

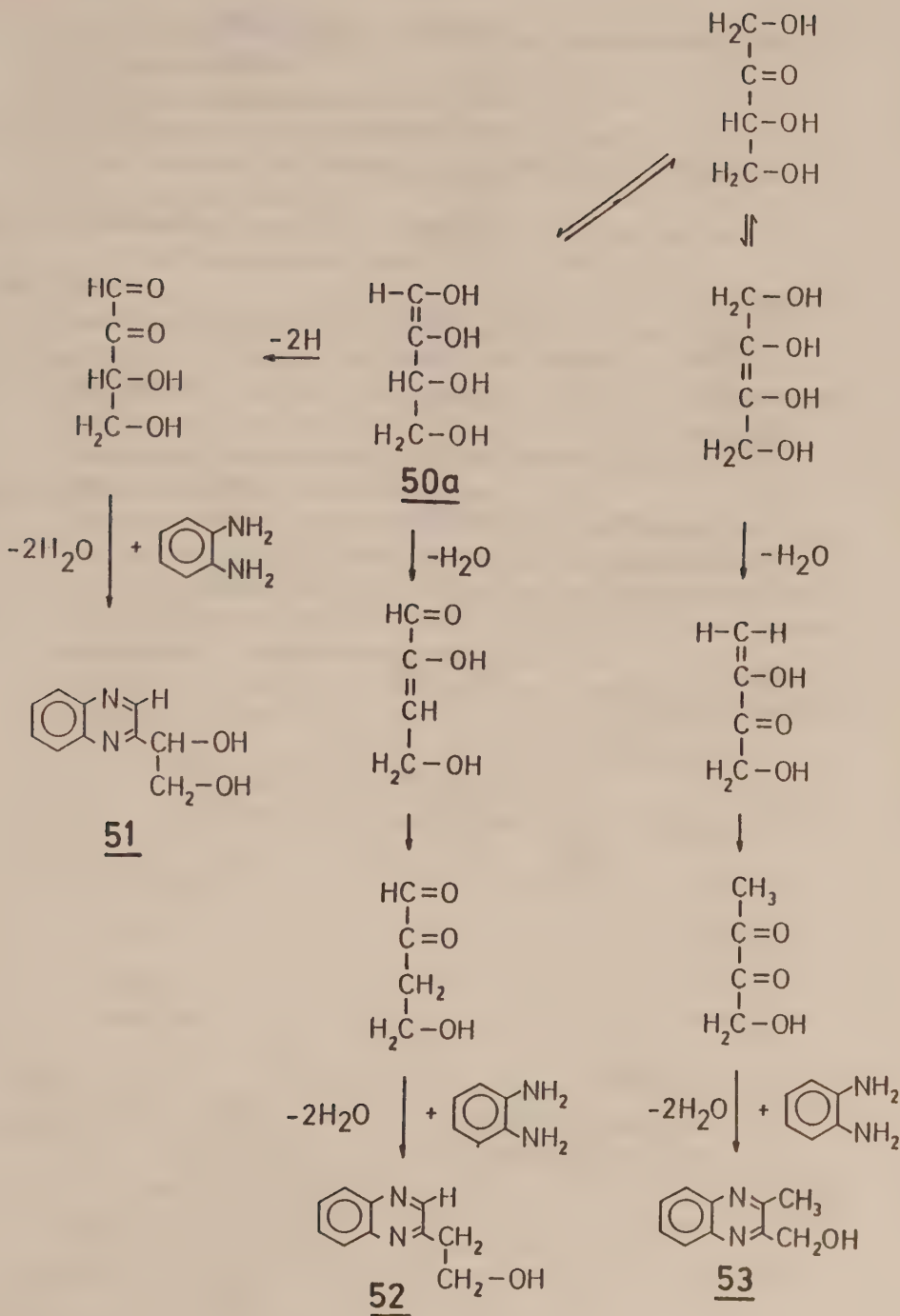
Um die postulierte Spaltung zum C-4 Zucker und dessen Abbau zu überprüfen, setzte ich Erythrose 50b unter analogen Bedingungen mit OPD um (vgl. 4.3.).

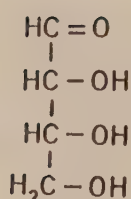
4.3. Reaktion von Erythrose 50b mit OPD.

Zusätzlich zu den Chinoxalinen 51, 52 und 53 wurde hier noch das Benzimidazol der Erythrone 25 gebildet (vgl. auch 3.). Die Gaschromatogramme der acetylierten Umsetzungsgemische zeigten, daß die Abfangreaktion mit OPD praktisch quantitativ verlief. Das heißt die Maillardreaktion kommt nach Entstehung der primären Abbauprodukte bereits zum Erliegen. Dadurch sollte es allgemein möglich sein Aussagen über die Bedeutung einzelner Abbaupfade bei der Maillardreaktion machen zu können.

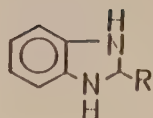
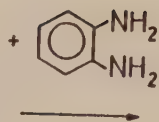
Im Fall von Tetrosen kann allerdings vom OPD Abfangprodukt her nicht zwischen dem 1- und 4-Desoxyosonweg unterschieden werden (vgl. Formelschema S. 34).



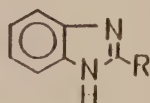




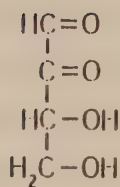
50b



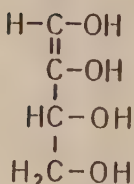
$\text{R} = (\text{CHOH})_2-\text{CH}_2\text{OH}$



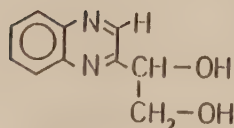
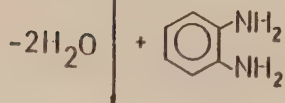
25 $\text{R} = (\text{CHOH})_2-\text{CH}_2\text{OH}$



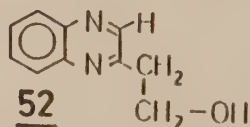
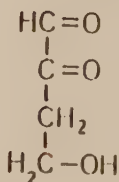
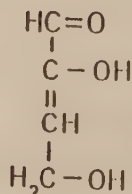
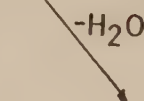
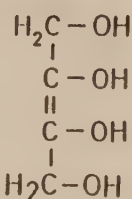
$\xleftarrow{-2\text{H}}$



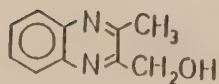
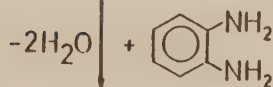
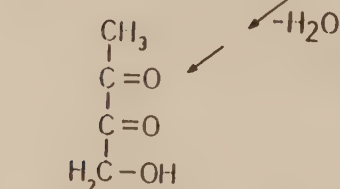
50a



51



52



53

4.4 Umsetzung von Glucose bzw. Glucose/Glycin-Reaktionsprodukten mit OPD.

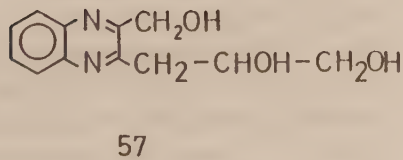
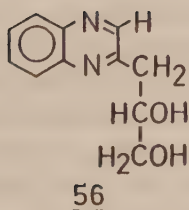
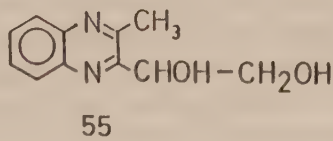
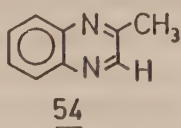
- Umsetzung von Glucose mit OPD bei pH 10.
- Umsetzung von Glucose mit OPD bei pH 7.
- Umsetzung von Glucose in Gegenwart von OPD und Glycin bei pH 7.
- Maillardreaktion von Glucose mit Glycin bei pH 7 und nachträgliche Umsetzung mit OPD.

zu a)

Diese Umsetzung wurde bereits von Morita N. und Takagi M. durchgeführt. (48,34). Sie erhitzten Glucose und OPD in, mit Carbonatpuffer auf pH 10 eingestellter, wäßriger Lösung eine Stunde unter Rückfluß. Durch HPLC Analytik bzw. gaschromatographische Untersuchung nach Silylierung konnten sie folgende Verbindungen identifizieren:

2-Methylchinoxalin 54, 2-Hydroxymethyl-3-methylchinoxalin 53, 2-(2'-Hydroxyäthyl)chinoxalin 52, 2-(1',2'-Dihydroxyäthyl)-3-methylchinoxalin 55, 2-(2',3'-Dihydroxypropyl)chinoxalin 56, 2-(2',3',4'-Trihydroxybutyl)chinoxalin 16 und 2-(2',3'-Dihydroxypropyl)-3-hydroxymethylchinoxalin 57.

Das Chinoxalin der 1-Desoxyhexosulose 17 konnten sie allerdings nicht nachweisen.



Abgesehen von den Chinoxalinen der 3- bzw. 4-Desoxyhexosulose 16 bzw. 57 handelt es sich dabei um Verbindungen, die durch Reaktion von OPD mit C-C Spaltprodukten entstanden sind. C-C Spaltungen sind vor allem, im basischen Milieu, begünstigt. Sie werden in wesentlich geringerem Ausmaß beobachtet, wenn man die Umsetzung analog bei pH 7 durchführt (vgl. 4.4.b).

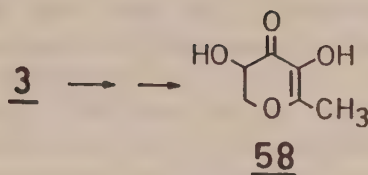
Ich führte die Untersuchung des Umsetzungsgemisches der unter 4.4.a beschriebenen Reaktion nach analoger Aufarbeitung wie Morita und Takagi aber anschließender Acetylierung mit Hilfe der GC/MS Kopplung durch. Zusätzlich zu den von Morita und Takagi identifizierten Substanzen konnte ich eine weitere nachweisen.

Die peracetylierten Chinoxaline der 1-, 3- und 4-Desoxyhexosulosen besitzen jeweils die Masse 360. Ich erhielt tatsächlich 3 Massenspektren mit diesem Molekülpeak. Eines davon konnte, über das Zerfallsmuster der Vergleichssubstanz, der acetylierten Verbindung 16 zugeordnet werden, ein anderes dem der acetylierten Verbindung 57. Das Chinoxalin der 4-Desoxyhexosulose 57 stellte ich mir zu diesem Zweck nach einer Vorschrift des Arbeitskreises Morita her (34). Nach Interpretation des dritten Massenspektrums und Vergleich mit demjenigen der acetylierten Verbindung 53 der Erythrose, sollte es sich bei der Substanz um das acetylierte Chinoxalin der 1-Desoxyhexosulose 17 handeln. Die Vermutung erwies sich später, nachdem mir die Vergleichssubstanz zur Verfügung stand, als richtig.

zu b)

OPD erfüllt hier, wie auch unter 4.4.a, zwei Funktionen. Zum einen katalysiert es als primäres Amin den Zuckerabbau, zum anderen fungiert es als Abfangreagens. Diese Umsetzung zeigte, daß die Abfangreaktion praktisch quantitativ verlaufen ist. Es wurden zwar die Chinoxaline der 1- und 3-Desoxyhexosulose gebildet, aber kein 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl- γ -pyron 58. 58 stellt ein charakteristisches Folgeprodukt der 1-Desoxyhexosulose 3 dar (49). Aufgrund fehlender Peaks mit entsprechenden Retentionszeiten läßt sich aussagen, daß C-C Spaltungsreaktionen bei pH 7 in weit geringerem Ausmaß ablaufen als

bei pH 10 (vgl. 4.4.a).



zu c)

Die Produktbildung ist nahezu identisch mit der des Versuchs b). In beiden Fällen überwiegt das Chinoxalin der 1-Desoxyhexosulose 17 gegenüber dem der 3-Desoxyhexosulose 16. D.h., es scheint bevorzugt der 1-Desoxyosonweg beschritten zu werden (vgl. auch 9. halbquantitative Bestimmungen).

zu d)

Hier sieht man an der Bildung von Folgeprodukten, z.B. 58, daß zwischen Glucose und Glycin der aminkatalysierte Zuckerabbau abgelaufen ist. Durch nachfolgende Umsetzung mit OPD kann kein Chinoxalin der 1-Desoxyhexosulose 17 mehr erfaßt werden.

Die Versuche a) bis d) bestätigen, daß OPD, zu Beginn des aminkatalysierten Zuckerabbaus zugesetzt, die Maillardreaktion bereits im Anfangsstadium zum Erliegen bringt. Sie zeigen aber auch, daß über die Abfangreaktion Aussagen, über die Zuckerabbauwege, sowohl in qualitativer als auch quantitativer Hinsicht, möglich sein sollten.

5. Reaktionen von 1-Desoxy-1-aminofructosen mit OPD.

5.1.

a) Umsetzung der 1-Desoxy-1-piperidino-fructose 59 (51).

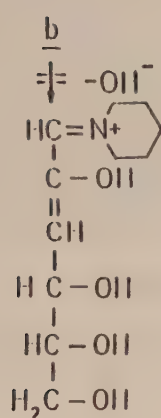
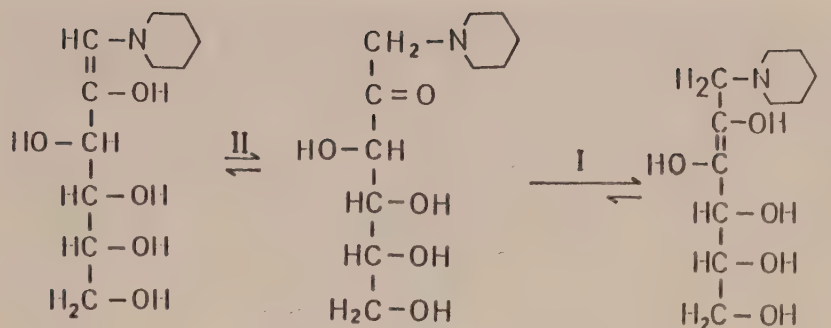
Die Reaktion von 59 mit OPD führte im pH Bereich von 1 bis 10 zur Bildung eines Hauptprodukts. Dabei handelt es sich um das Chinoxalin der 1-Desoxyhexosulose 17. Diese Verbindung, die sich wie oben beschrieben neben anderen Substanzen auch bei der Umsetzung von Glucose mit OPD bei pH 10 und pH 7 gebildet hatte (vgl. 4.4.a,b), konnte von mir hier erstmalig in reiner Form als kristalline Verbindung iso-

liert werden. (50). Damit hatte ich ein stabiles Derivat der 1-Desoxyhexosulose in der Hand, über das diese in Zucker/Amin Umsetzungsgemischen nachzuweisen sein sollte. Neben 17 konnte in keinem Fall die Bildung von 16 oder 57 nachgewiesen werden. Es war auch kein 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl- γ -pyron 58 zu identifizieren. Das bedeutet zum einen, daß die Abtangreaktion praktisch quantitativ erfolgte und zum anderen, daß 59 offensichtlich nur über den 1-Desoxyosonweg abgebaut wird.

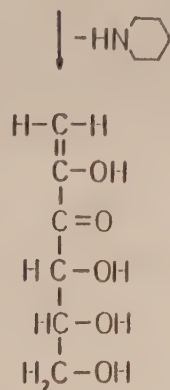
Die Absicherung der Struktur von Verbindung 17 erfolgte sowohl über die Spektraldaten (siehe experimenteller Teil) als auch durch Perjodatspaltung zu 18. Nach Reduktion von 18 zum Alkohol ist die Verbindung identisch mit dem Chinoxalin des 1- bzw. 4-Desoxyosons der Erythrose 53.

b) Überlegungen zum Reaktionsmechanismus.

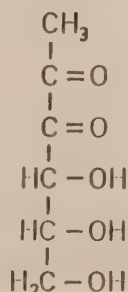
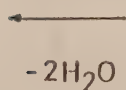
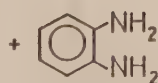
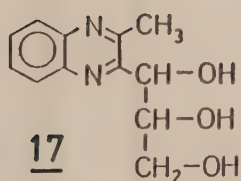
Verbindung 59 hat zwei Möglichkeiten zu enolisieren (vgl. Weg I bzw. Weg II im Formelschema S. 39). Beide Enolformen a und b sollten eigentlich über die Ketoform 59 miteinander im Gleichgewicht stehen. Die Aminfunktion am C-1 stellt wohl die bessere Abgangsgruppe dar, da anscheinend nur sie und nicht auch die Sauerstofffunktion am C-3 eliminiert wird. Es könnte auch sein, daß die Ausbildung der Immoniumstruktur c am C-1 die im Fall einer Eliminierung am C-3 erfolgen müßte nicht begünstigt ist. Diese Reaktion entspricht vom Typ her der Anfangsphase einer vinylogenen Mannichreaktion. Möglicherweise kommt sie aufgrund der Ladungserzeugung, die beim Reaktionsweg I unterbleibt, nicht zum Tragen. Nach Tautomerisierung des entstehenden Enols d bildet sich die 1-Desoxyhexosulose 3 in ihrer α Dicarbonylform, die mit OPD zum Chinoxalin reagiert.



c



d



3

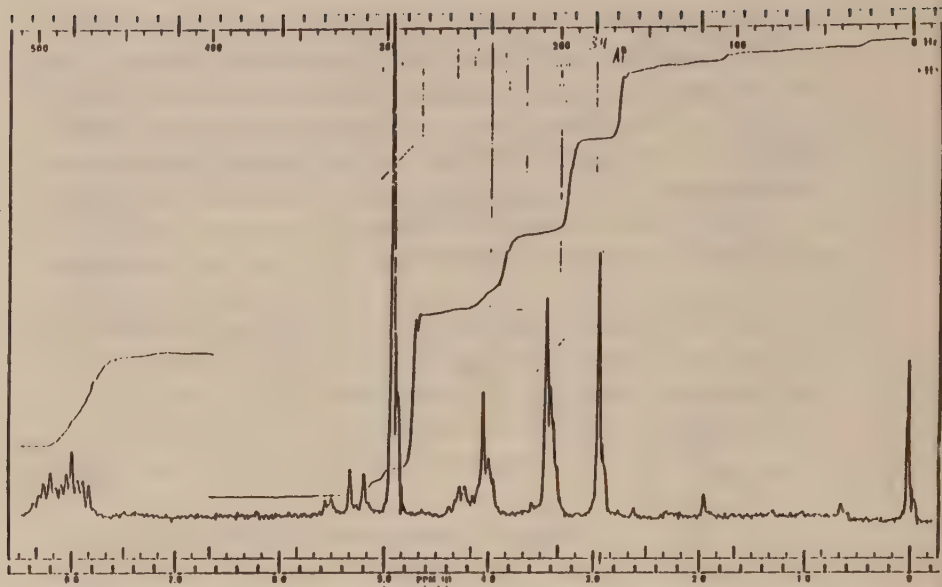


Abb. 1: ^1H -NMR Spektrum von Verbindung 17. (D_3COD)

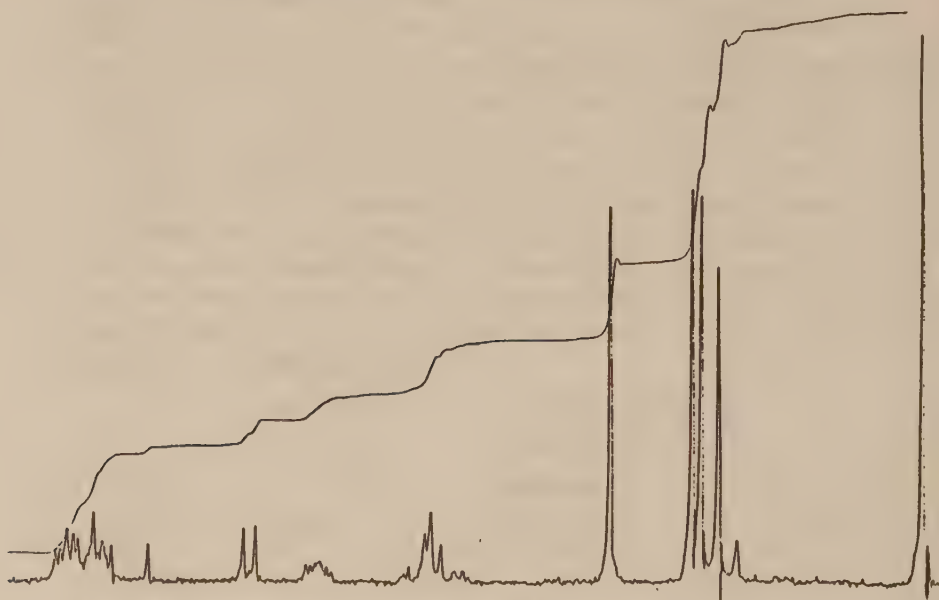


Abb. 2: ^1H -NMR Spektrum der acetylierten Verbindung 17. (DCCl_3)

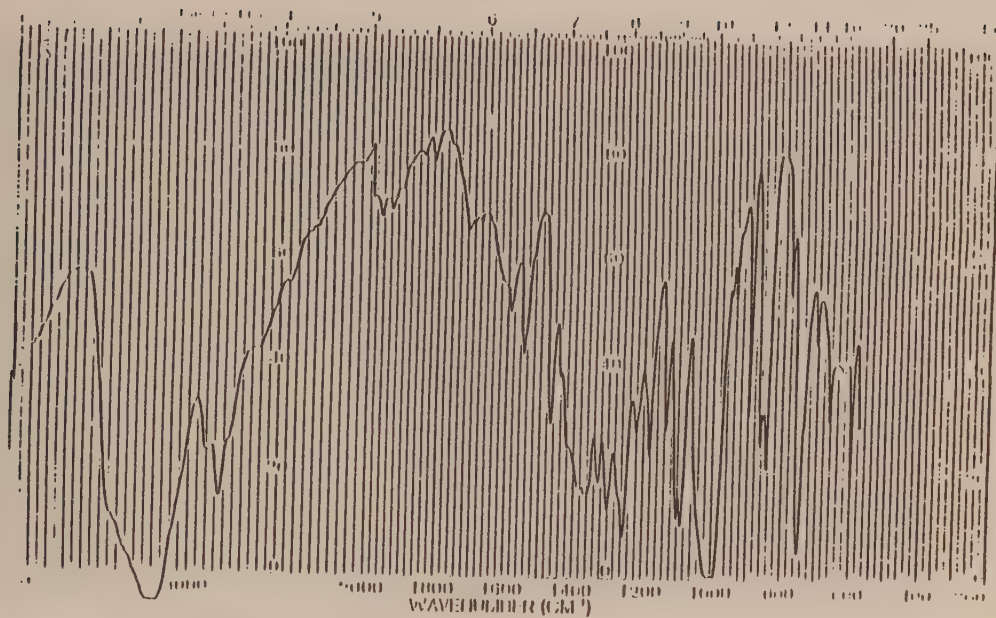


Abb. 3: IR Spektrum der Verbindung 17. (KBr)

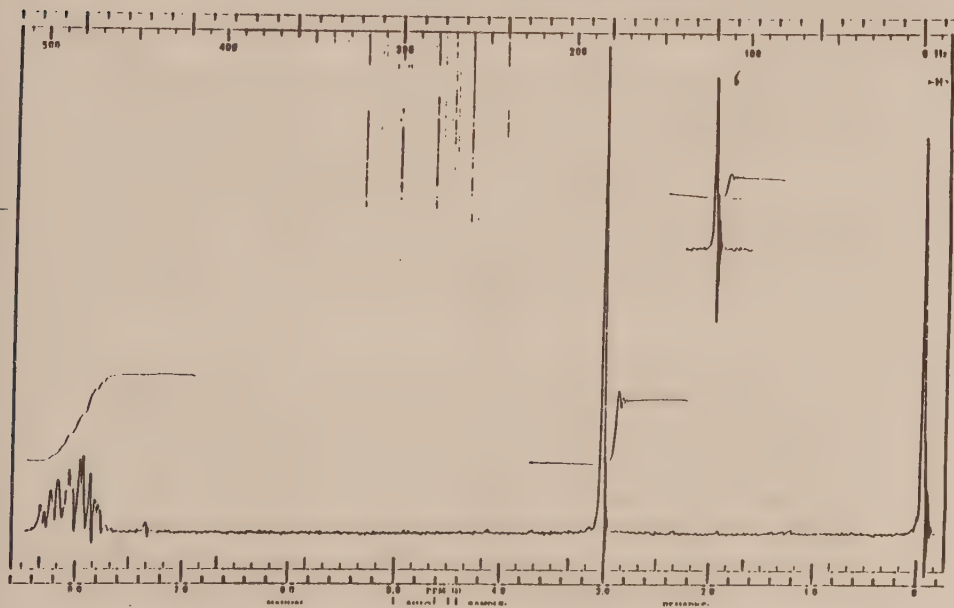


Abb. 4: ¹H-NMR Spektrum von Verbindung 18. (DCCl₃)

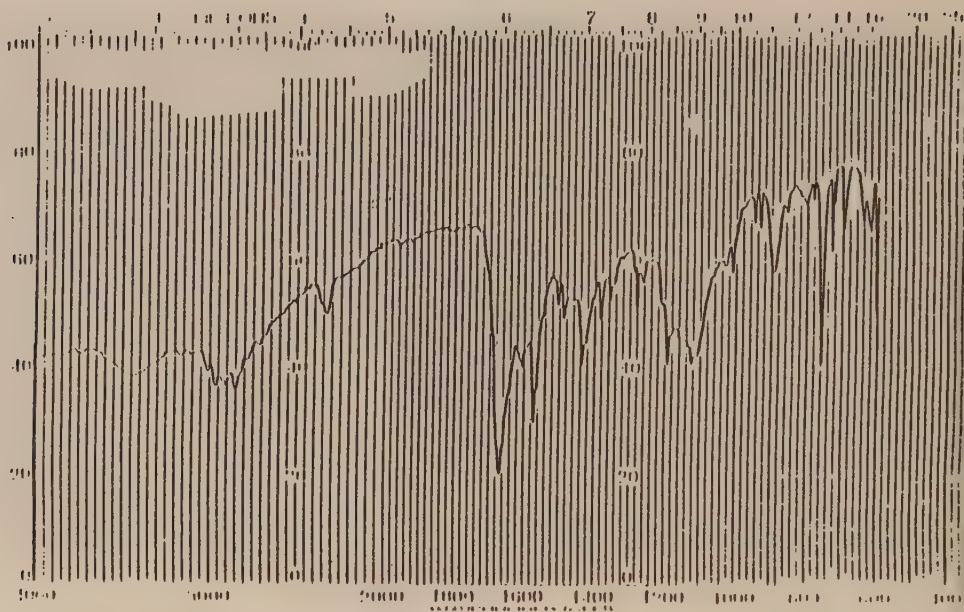


Abb. 5: IR Spektrum von Verbindung 18. (KBr)

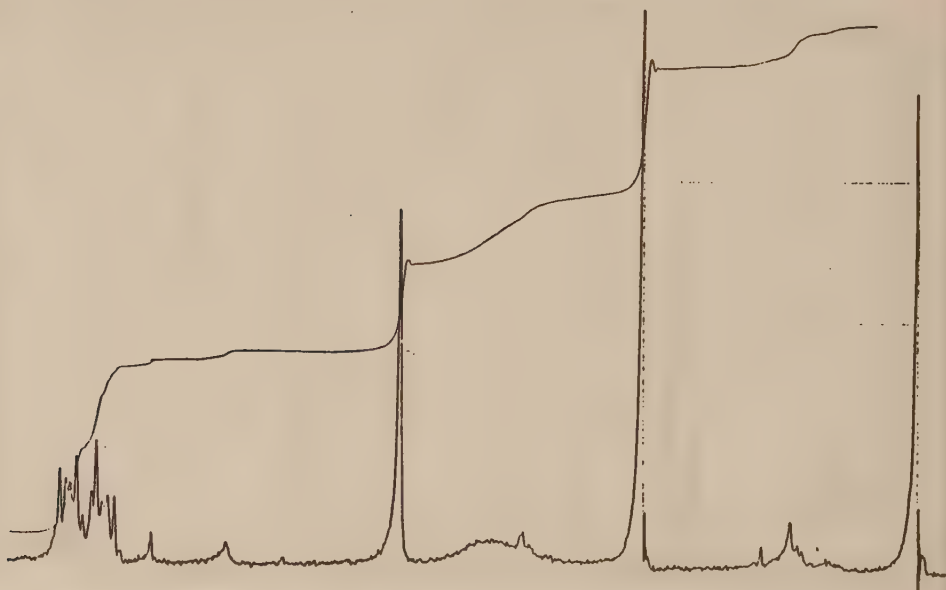


Abb. 6: ^1H -NMR Spektrum von Verbindung 53. (DCCl₃)

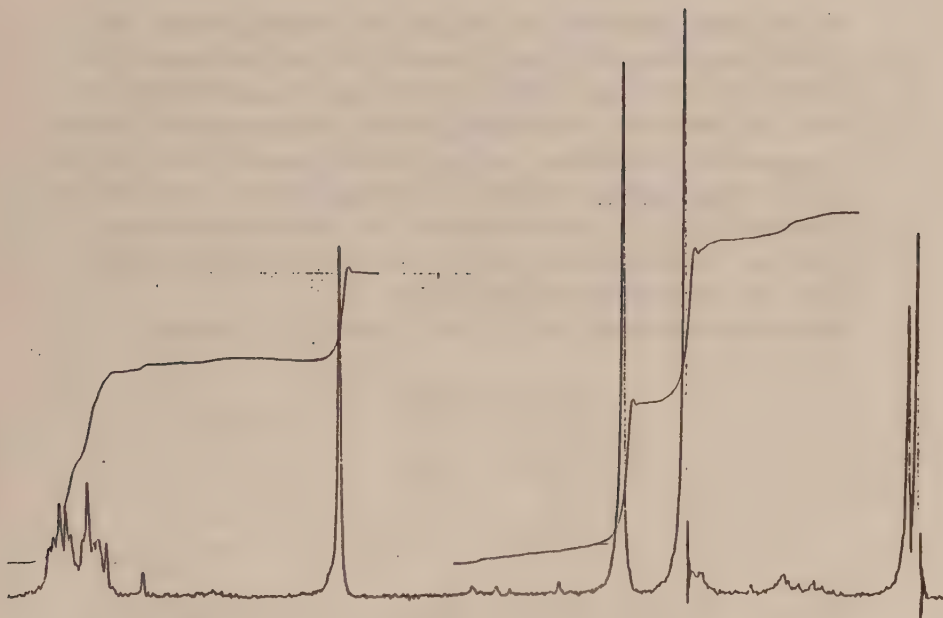


Abb. 7: ^1H -NMR Spektrum der acetylierten Verbindung 53. (DCCl_3)

Es sollte nun, nachdem mir die Vergleichssubstanzen 16, 17 und 57 zur Verfügung standen, möglich sein Aussagen über die Reaktionswege, die in der Anfangsphase des aminkatalysierten Zuckerabbaus beschriftet werden, zu machen.

Die acetylierten Verbindungen 16, 17 und 57 sind gaschromatographisch, aufgrund unterschiedlicher Retentionszeiten, gut voneinander zu unterscheiden (vgl. exp. Teil).

5.2.

a) Umsetzung von 1-Desoxy-1-aminofructosen primärer Amine. Die Amadoriprodukte aus Glucose und Propylamin 60, para-Toluidin 61 und Tryptophan 62 wurden in wäßriger Lösung mit OPD, jeweils bei den pH Werten 7,0 und 4,5 umgesetzt. Im Gegensatz zum Amadoriprodukt des sekundärenamins Piperidin 59 werden 1-Desoxy-1-aminofructosen primärer Amine nicht nur über den 1-Desoxy-, sondern auch über den 3-Des-

oxy-sonweg abgebaut. Es stellte sich zudem heraus, daß das Verhältnis von 16 zu 17 sowohl pH- als auch amin- abhängig ist. Wie aus folgenden Tabellen zu ersehen ist, wird der Abbau mit sinkendem pH Wert zu Gunsten des 3-Desoxysonwegs verschoben. Je nach Aminkomponente kann er im sauren Milieu sogar dominierend werden. Die halbquantitative Bestimmung erfolgte, anhand der Indikatorsubstanz 16 für den 3-Desoxysonweg und 17 für den 1-Desoxysonweg, über die Peakflächenintegrationen.

Prozentuale Bildung von 16 und 17 aus 60, 61 und 62 :
bei pH 7

	<u>60</u>	<u>61</u>	<u>62</u>
<u>16</u>	1%	3%	6,1%
<u>17</u>	41,7 %	33,5%	14,4%

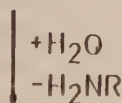
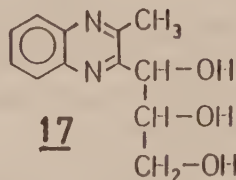
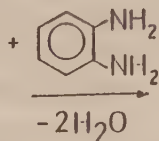
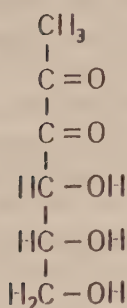
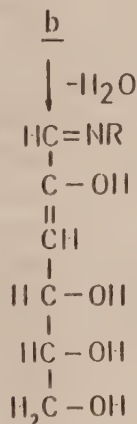
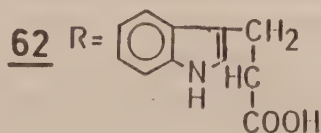
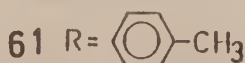
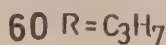
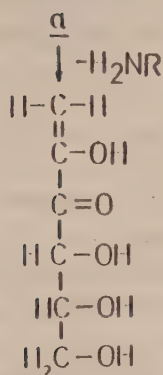
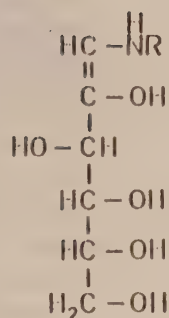
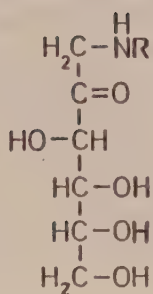
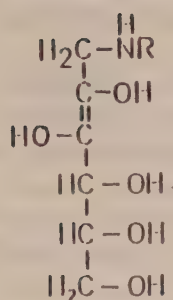
Bei pH 7 dominiert in allen Fällen der 1-Desoxysonweg.
bei pH 4,5

	<u>60</u>	<u>61</u>	<u>62</u>
<u>16</u>	5,2%	18%	21,4%
<u>17</u>	8,6%	6,0%	2,9%

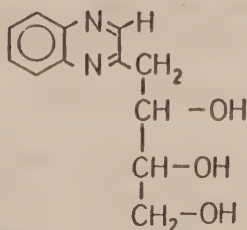
Mit sinkendem pH Wert gewinnt der 3-Desoxysonweg an Bedeutung.

b) Überlegungen zum Reaktionsmechanismus.

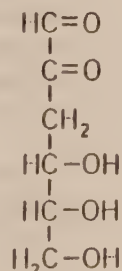
Aus den Ergebnissen der Versuche, die unter 5.1 und 5.2. beschrieben sind, ist ersichtlich, daß gewisse Unterschiede bestehen im Abbau von Aminofructosen aus primären und sekundären Aminen. Ein möglicher Grund dafür könnte sein, daß bei der Eliminierung der Sauerstofffunktion am C-3, im Fall von Aminoketosen aus primären Aminen, keine ionische Immoniumstruktur gebildet werden muß (vgl. Formelbild S.45 Weg I).



3



16



5

Weitere Untersuchungen wären nötig um Gründe für die pH-Abhängigkeit des Abbaus zu finden. Man kann sich mehrere Möglichkeiten vorstellen:

- z.B. a) die Gleichgewichtslage zwischen a und b verschiebt sich durch die bevorzugte Bildung einer der beiden Formen unter Beibehaltung der Geschwindigkeiten der Folgereaktionen von a und b.
- b) die Gleichgewichtslage bleibt unverändert, aber die Geschwindigkeit der Folgereaktionen von a und b ändert sich.
- c) sowohl die Gleichgewichtslage als auch die Geschwindigkeiten der Folgereaktionen von a und b ändern sich
- mit sinkendem pH Wert.

5.3. Umsetzung von Glucose mit Piperidin in Gegenwart von OPD.

Die Reaktion wurde durchgeführt (bei pH 7 und 4,5) um feststellen zu können ob OPD den Zuckerabbau in Gegenwart eines anderen Amins beeinflusst (OPD = primäres Amin, Piperidin = sekundäres Amin). Die Untersuchung erfolgte gaschromatographisch nach Acetylierung. Abgesichert wurden die Ergebnisse mit Hilfe der GC/MS Kopplung.

Das Hauptprodukt bei pH 4,5 stellte das Benzimidazol der Gluconsäure 26 dar (nach einer Stunde, 45% der Peakflächenintegration). Bei beiden pH Werten konnte das Chinoxalin der 1-Desoxyhexosulose 17 nachgewiesen werden, in keinem Fall jedoch das der 3-Desoxyhexosulose 16. Das bedeutet, daß die Tendenz beim Zucker- wie beim Aminoketoseabbau die gleiche ist.

Daraus kann der Schluß gezogen werden, daß OPD in Gegenwart des sekundären Amins Piperidin lediglich als Abfangreagens fungiert hat. Es war selbst, als primäres Amin, nicht am Zuckerabbau beteiligt, sonst wäre auch 16 gebildet worden (vgl. 4.4.b).

5.4. Umsetzung von Glucose mit Glycin in Gegenwart von OPD.

Auch diese Reaktion wurde bei pH 7 und 4,5 durchgeführt. Im sauren Milieu (pH 4,5) wird zwar auch hier das Benzimidazol der Gluconsäure 26 gebildet, aber nicht in dem Ausmaß wie in Gegenwart von Piperidin (nach einer Stunde, 3,5% der Peakflächenintegration, vgl. dagegen 5.3.). Bei beiden pH Werten (4,5 und 7,0) konnte sowohl 16 als auch 17 identifiziert werden. Das heißt, in Gegenwart eines primären Amins wird der Zucker sowohl über den 1- als auch 3-Desoxyosonweg abgebaut (vgl. auch 4.4.c). Anhand der Peakflächenintegrationen der acetylierten Verbindungen 16 und 17 ergaben sich folgende Verhältnisse der Abbauewege zu einander:

bei pH 7,0

$$\frac{17}{16} = 4/1 = \text{1-Desoxyosonweg/3-Desoxyosonweg}$$

bei pH 4,5

$$\frac{17}{16} = 4/1$$

Man sieht, daß ein Absenken des pH Wertes hier keine Verschiebung des Abbaus zugunsten des 3-Desoxyosonweges, wie sie bei Aminoketosen primärer Amine festgestellt wurde, bewirkt (vgl. 5.2.). Das könnte als Hinweis dafür angesehen werden, daß der aminkatalysierte Zuckerabbau nicht ausschliesslich über die Aminoketosen läuft, sondern ein Teil des Zuckers an diesen vorbei abgebaut wird.

6. Versuche mit Pentosen

Es war schwierig aus Pentosen Amadoriprodukte herzustellen, deshalb wurden weitere Versuche unterlassen.

7. Versuch zum aminkatalysierten Disaccharidabbau.

7.1.

a) Umsetzung der 1-Desoxy-1-piperidinomaltulose 63 (55) mit OPD.

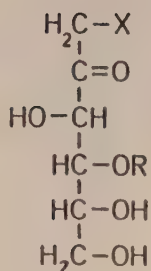
Die Produktbildung bei pH 8, 7, und 5,5 ist vergleichbar. In allen Fällen konnte sowohl das Chinoxalin der 1,4-Didesoxy-1-piperidinoxalosose 68 als auch das Chinoxalin des 1-Desoxyosons der Maltose 67 identifiziert werden. Daraus

ist ersichtlich, daß die glycosidische Vollacetalbindung bis zum pH Wert 5,5 keiner wesentlichen Säurehydrolyse unterliegt. Das Chinoxalin des 3-Desoxyosons der Maltose 69 war nicht nachweisbar. 67 und 69 wurden kürzlich als Reaktionsprodukte des säurekatalysierten Disaccharidabbaus in Gegenwart von OPD beschrieben. Allerdings erfolgte die Strukturzuordnung nur über die Interpretation des massenspektrometrischen Zerfalls der silylierten Produkte. (30). Ich habe Substanz 67 rein, in kristalliner Form, erhalten. Unter den von mir angewendeten Bedingungen kristallisierte sie in hoher Ausbeute aus dem Reaktionsgemisch aus. Neben dem erwarteten 1-Desoxyoson 64 konnte so auch die bisher unbekannte 1,4-Didesoxy-1-piperidinohexosulose 65 indirekt über die Verbindung 68 nachgewiesen werden. In 1-Desoxy-1-piperidinofructose/OPD Umsetzungsgemischen konnte 68 dagegen nicht identifiziert werden.

b) Überlegungen zum Reaktionsmechanismus.

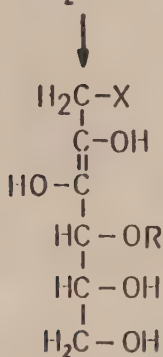
Es ist offensichtlich, daß ein gewisser Unterschied besteht im Abbau von Piperidinamadoriprodukten aus Mono- und Disacchariden. Zwar werden beide über den 1- nicht aber über den 3-Desoxyosonweg abgebaut, im Gegensatz zum Mono- wird beim Di-saccharidprodukt aber auch der 4-Desoxyosonweg beschritten. Der Grund dafür ist wohl darin zu sehen, daß der zweite Zuckerrest am C-4 eine bessere Abgangsgruppe darstellt als eine Hydroxylgruppe. (vgl. Formelschema S. 49).

glucose,
maltose $\longrightarrow$



59 : X =  , R = H

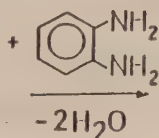
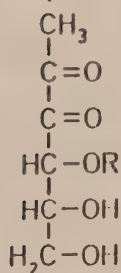
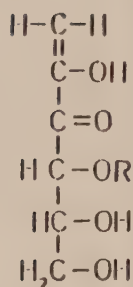
63 : X =  , R = α -glu



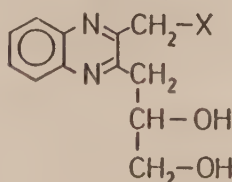
-ROH

für R = H, α -glu

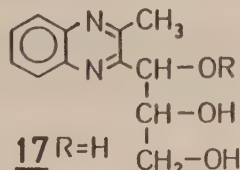
für R = α -glu



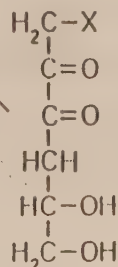
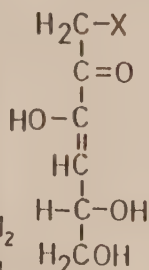
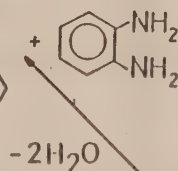
3 : R = H
64 : R = α -glu



68 : X = 



17 R = H
67 R = α -glu



65

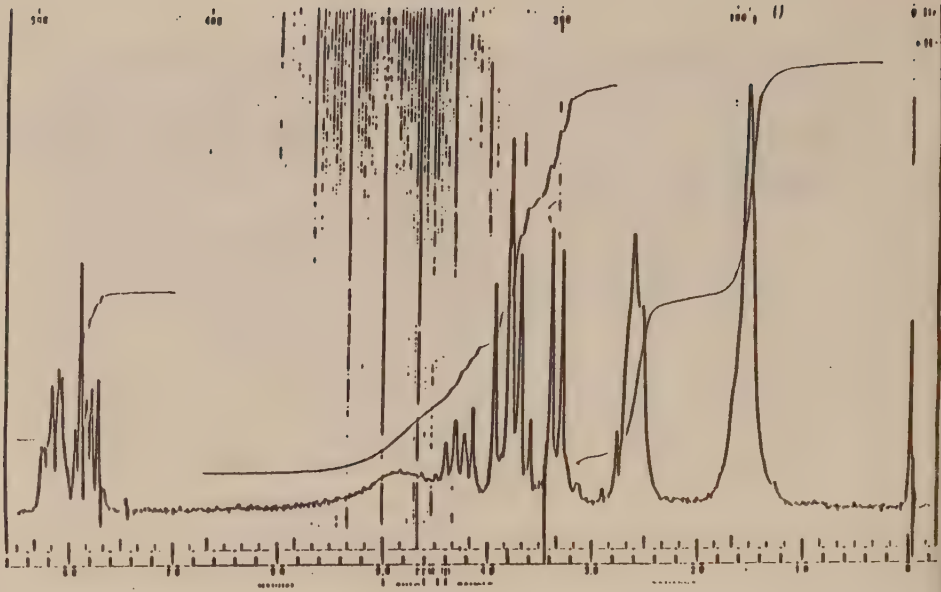


Abb. 8: ^1H -NMR Spektrum von Verbindung 68. (DCCl_3)

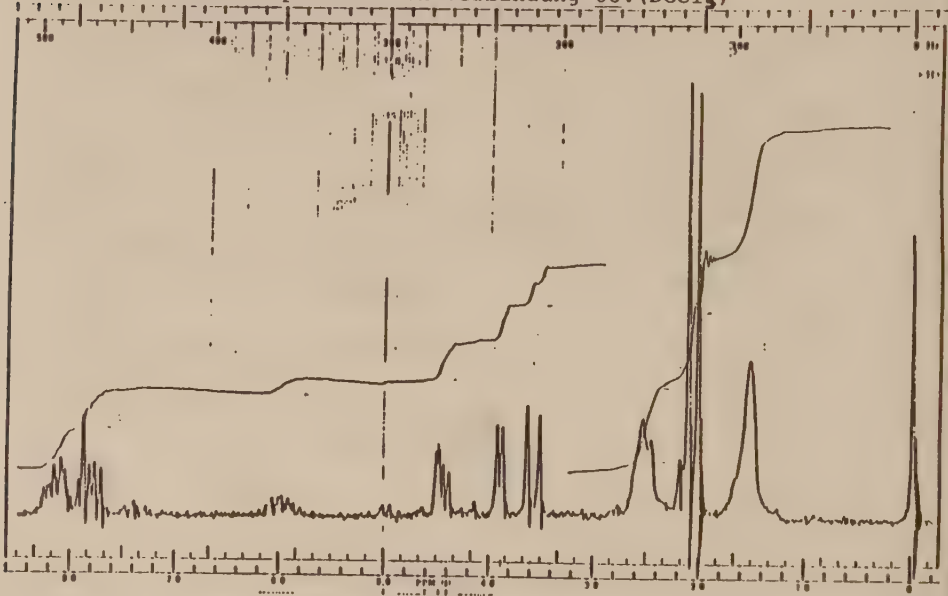


Abb. 9: ^1H -NMR Spektrum der acetylierten Verbindung 68. (DCCl_3)

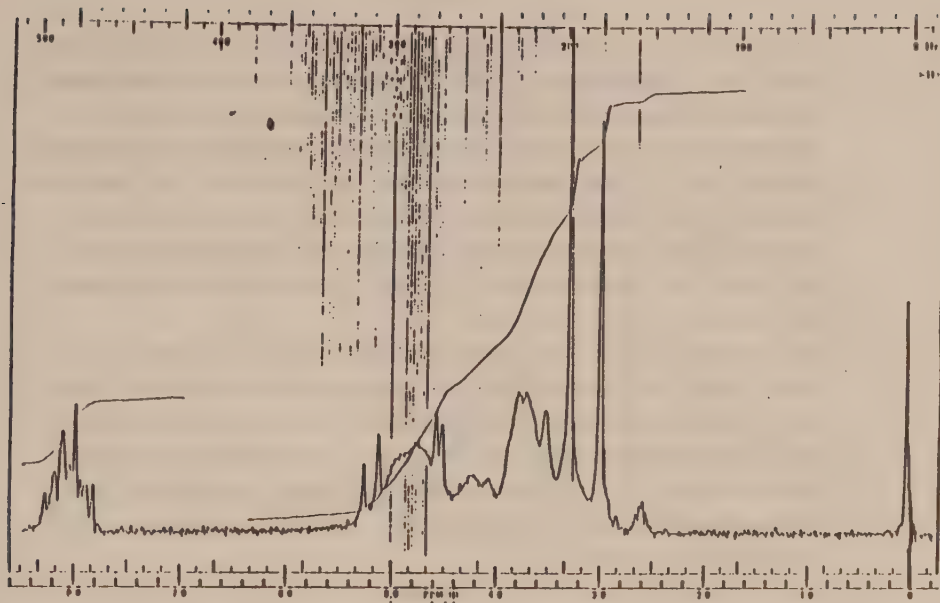


Abb. 10: ^1H -NMR Spektrum von Verbindung 67. (DMSO deut.)

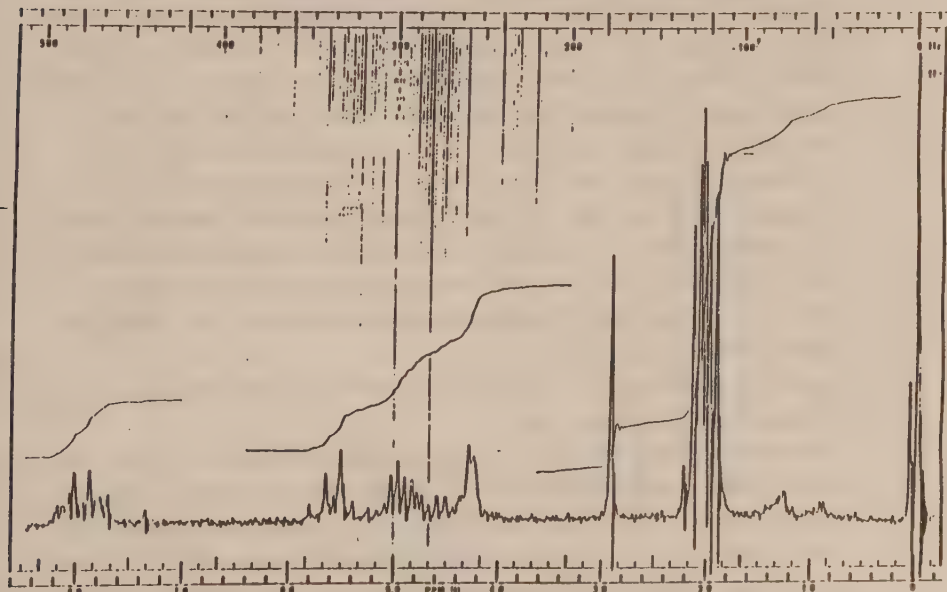


Abb. 11: ^1H -NMR Spektrum der acetylierten Verbindung 67. (DCCl_3)

7.2. Umsetzung der 1-Desoxy-1-propylaminomaltulose 70 mit OPD.

Über die Chinoxaline 67 und 69 konnten die entsprechenden 1- und 3-Desoxyosone der Maltose nachgewiesen werden. Während auch hier 67 als kristalline Reinsubstanz gewonnen wurde, fiel 69 im Gemisch mit dem Benzimidazol der Maltonsäure 71 an. (Formelbilder von 69 und 71 vgl. S. 53). Die Identifizierung gelang über FAB-Massenspektrometrie und über den Nachweis von 16 bzw. 26 nach α -Glucosidase-spaltung.

Das bedeutet, daß Aminoketosen aus primären Aminen und Mono- bzw. Di-sacchariden auf analoge Art und Weise abgebaut werden. Weitere Untersuchungen wären erforderlich um feststellen zu können, ob auch 1,4-Didesoxy-1-amino-hexosulosen z.B. 72 beim Abbau von Amadoriprodukten aus Disacchariden und primären Aminen gebildet werden. (vgl. Formelschema S. 54).

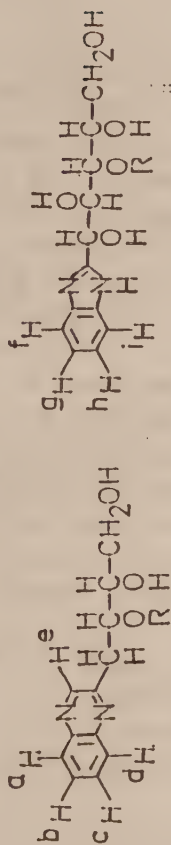
8. Weitere Untersuchungen zum Abbau von Aminoketosen.

1-Desoxy-1-propylaminofructose 60 wurde unter verschiedenen Bedingungen, ohne Zugabe von OPD als Abfangreagens, umgesetzt. Anhand von Indikatorsubstanzen für den 1- und 3-Desoxyosonweg versuchte ich Aussagen über den Verlauf der Maillardreaktion zu machen. Als Bezugssubstanz für den 1-Desoxyosonweg wählte ich das 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl- δ -pyron 58, für den 3-Desoxyosonweg das 2-Formyl-5-hydroxymethyl-1-propylpyrrol 74. Verbindungen der Struktur 74 bilden sich bei der Umsetzung von reduzierenden Zuckern in Gegenwart primärer Amine anstelle von Hydroxymethylfurfural 76. (56).

Sowohl das Furan-als auch das Pyrrol-derivat stellen 3-Desoxyosonfolgeprodukte dar.

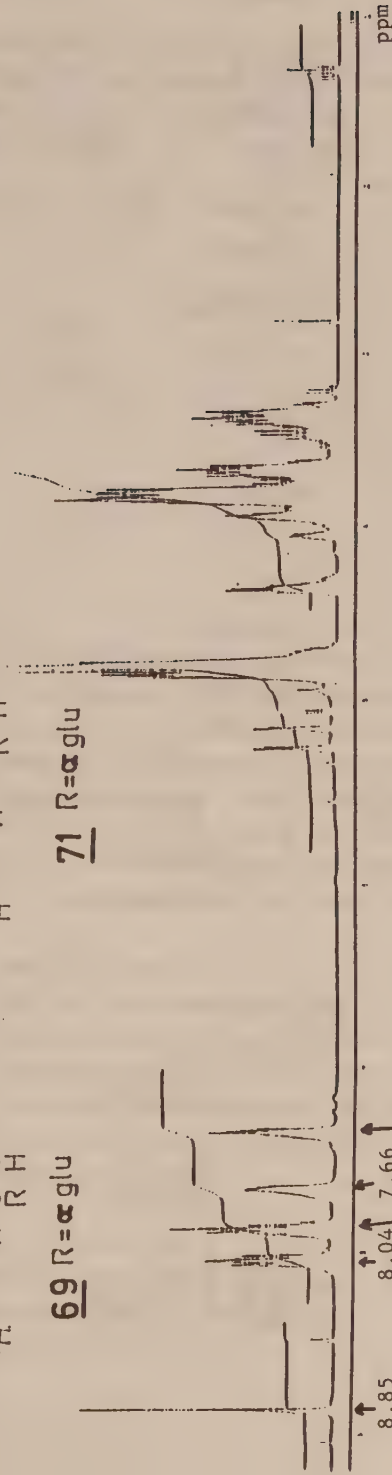
Es stellte sich heraus, daß 60 umgesetzt bei pH 7 ohne weitere Reaktionspartner in wäßriger Lösung weder zu 58 noch 74 abgebaut wird. Das heißt, es läuft keine Maillardreaktion ab. Gibt man bei pH 7,0 äquimolare Mengen Propylamin zu (bzgl. 60) oder führt die Umsetzung von 60 bei pH 5 durch, ebenfalls

Abb. 12: ^1H -NMR Spektrum 400 MHz von Verbindung 69 und 71. (D_2O)



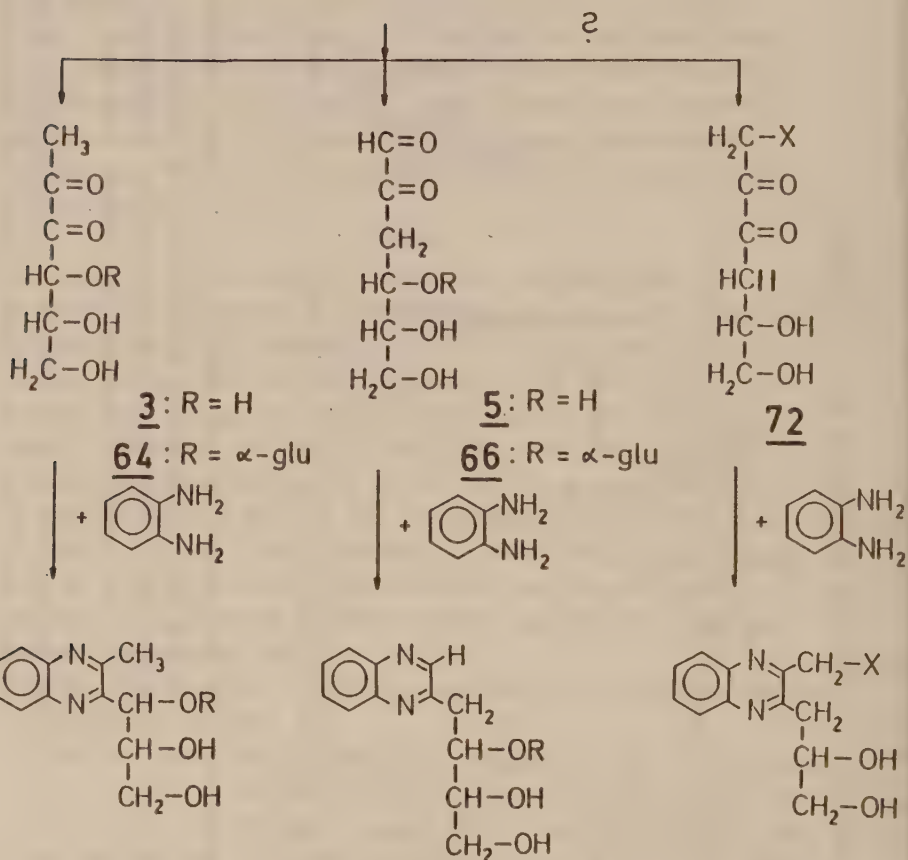
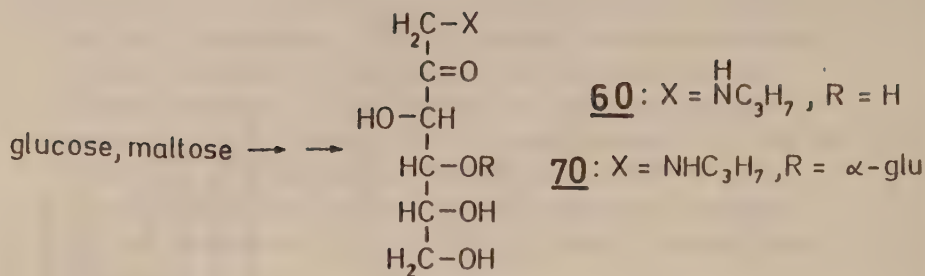
69 $\text{R} = \alpha\text{glu}$

71 $\text{R} = \alpha\text{glu}$



Signalzuordnung: Die Multiplets um 8,04 ppm und um 7,87 ppm werden durch die Protonen a bis d der Verbindung 69 hervorgerufen (typisches Chinoxalinarmatenmuster). Das Singulett bei 8,85 ppm entspricht dem Proton e von 69. Die Integrationswerte der Signale verhalten sich wie 1/2/2 (8,85/8,04/7,87).

Die Multiplets um 7,66 ppm und um 7,35 ppm sind den Benzimidazolprotonen f bis i zuzuordnen (typisches Benzimidazolarmatenmuster). Die Integrationswerte dieser Signale verhalten sich wie 1/1.

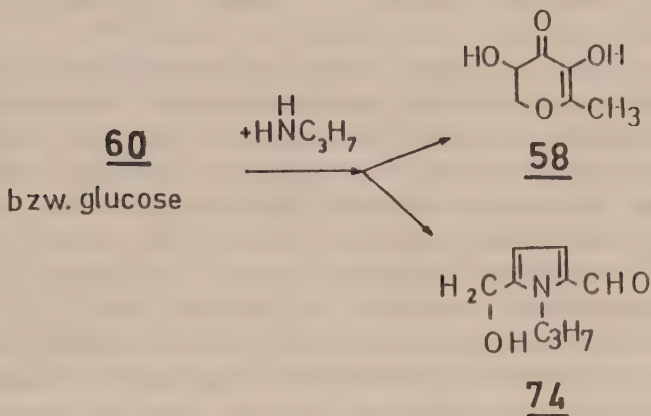


17: $\text{R} = \text{H}$
67: $\text{R} = \alpha\text{-glu}$

16: $\text{R} = \text{H}$
69: $\text{R} = \alpha\text{-glu}$

73: $\text{X} = \text{NHC}_3\text{H}_7$

ohne zusätzliche Reaktionspartner , so findet man sowohl 58 als auch 74. Das bedeutet, daß Aminoketosen, isoliert für sich in wäßriger Lösung bei pH 7, verhältnismäßig stabil sind.



9. Vergleich des Glucoseabbaus mit dem Aminoketoseabbau.

Es wurde versucht über halbquantitative Abschätzung Hin-
weise dafür zu erhalten, ob der Glucoseabbau ausschliesslich
über die Aminoketosen abläuft oder ob ein Teil des Zuckers
an diesen vorbei abgebaut wird. Als Indikatorsubstanzen
für den 1- bzw. 3-Desoxyosonweg in Zucker/Propylamin- bzw.
1-Desoxy-1-propylamino-fructose/Propylamin-Umsetzungen ver-
wendete ich wiederum 58 und 74 (vgl. Tabelle: I und II
S. 56)

In Umsetzungsgemischen mit OPD (vgl. III und IV) bezog
ich mich auf die Chinoxaline 16 und 17.

Folgende Tabelle (S. 56) gibt Auskunft über die Verhält-
nisse der Peakflächenintegrationswerte (GC). Alle Umsetzun-
gen wurden bei pH 7 durchgeführt. Die Abkürzung 1-D steht
für das jeweilige 1-Desoxyosonprodukt, 3-D für das entspre-
chende 3-Desoxyosonprodukt.

I = Glucose + Propylamin

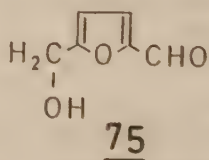
II = 1-Desoxy-1-propylamino-fructose + Propylamin

III = 1-Desoxy-1-propylamino-fructose + OPD

IV = Glucose + Glycin + OPD

I	II	III	IV
1-D/3-D	1-D/3-D	1-D/3-D	1-D/3-D
1/2	5/1	41/1	4/1

Vergleicht man I und II, so scheint das Amadoriprodukt 60 im Gegensatz zum Zucker bevorzugt über den 1-Desoxyosonweg abgebaut zu werden. Schaut man sich dagegen die Ergebnisse von III und IV an, so sieht man, daß sowohl die Aminoketose als auch der Zucker in größerem Ausmaß über den 1- als den 3-Desoxyosonweg reagieren. Beim Zucker (IV) ist allerdings das Verhältnis deutlich zu Gunsten des 3-Desoxyosonweges verschoben. Das bedeutet, daß beim Zuckerabbau das Amadoriprodukt zum Teil umgangen werden muß. Liefere der aminkatalysierte Zuckerabbau nämlich ausschließlich über die Aminoketose, so müßten sich die 1-D/3-D Verhältnisse bei III und IV entsprechen. (Der Unterschied ist so gravierend, daß die Verwendung zweier unterschiedlicher primärer Amine als Ursache auszuschliessen sein sollte). Verwendet man 58 und 74 als Indikatorsubstanzen für die entsprechenden Abbauewege, so erhält man nicht das tatsächliche 1-D/3-D Verhältnis. Beim Zuckerabbau dreht es sich sogar um (I). Der Grund dafür könnte eventuell darin zu suchen sein, daß der weitere Abbau der 1-Desoxyhexosulose zu einer größeren Produktvielfalt führt als der des 3-Desoxyosons. Damit wäre erklärbar warum bei einem 1-Desoxyhexosulose/3-Desoxyhexosuloseverhältnis von 4/1 mehr 74 als 58 zu finden ist. Dies führt zu dem Schluß, daß 58, 74 bzw. 75 keine optimalen Bezugssubstanzen darstellen um aus deren Verhältnis zueinander den Anteil der entsprechenden Reaktionswege am Zuckerabbau zu ermitteln.



10. Umsetzung von Glucose mit Träthylamin.

Beim Erhitzen von Glucose in Gegenwart tertiärer Amine wie z.B. Triäthylamin im pH Bereich von 5 bis 7 konnte weder 58 noch 75 nachgewiesen werden. Tertiäre Amine sind demnach nicht in der Lage den aminkatalysierten Zuckerabbau einzuleiten. Das deutet darauf hin, daß für die Maillardreaktion ein in das Zuckermolekül einbaufähiges Amin Voraussetzung ist. Hierfür sind primäre und sekundäre, aber keine tertiären Amine mehr geeignet. Da Aminoketosen primärer Amine einerseits und Glucose in Gegenwart von primären Aminen andererseits in unterschiedlichem Maß über den 1- bzw. 3-Desoxyosonweg abgebaut werden (vgl.8.) kann dies als Hinweis dafür angesehen werden, daß Glucose in Gegenwart primärer Amine z.T. am Amadoriprodukt vorbei reagiert. Weitere Untersuchungen wären erforderlich um genauere Aussagen darüber machen zu können, in welchem Ausmaß der Zucker nun tatsächlich über die Aminoketose bzw. an ihr vorbei abgebaut wird.

Rückblickend müßte dann auch die Schlußfolgerung erlaubt sein, daß Zucker in Gegenwart sekundärer Amine wie Piperidin ausschließlich über die Amadoriprodukte reagieren (vgl. auch 5.3.).

11. Zusammenfassung

Wie aus den Ergebnissen dieser Arbeit zu ersehen ist verläuft der aminkatalysierte Zuckerabbau in Abhängigkeit von Amin- und Zucker-komponente unterschiedlich.

So reagieren Amadoriprodukte von Mono- und Di-sacchariden des selbenamins zum Teil auf verschiedene Weise. Variiert man andererseits die Aminkomponente (primär oder sekundär) der Aminoketose ein und des selben Zuckers, so stellt man ebenfalls fest, daß es Unterschiede im Abbauverhalten gibt. Es hat sich gezeigt, daß Amadoriverbindungen aus Monosacchariden und sekundären Aminen über die 1-Desoxyhexosulose abgebaut werden. Analoges Verhalten zeigt auch der Zucker selbst in Gegenwart sekundärer Amine.

Demgegenüber werden Aminoketosen aus Monosacchariden und primären Aminen sowohl über die 1- als auch 3-Desoxyhexosulose abgebaut. Das Ausmaß in dem die einzelnen Reaktionswege beschränkt werden ist sowohl amin- als auch pH-abhängig.

Bei der durch primäre Amine katalysierten Zuckerumwandlung ist der Abbau zu Gunsten des 3-Desoxyosonweges verschoben. Dies ist ein Hinweis darauf, daß Zucker unter diesen Bedingungen z.T. unter Umgehung des Amadoriproduktes reagieren.

Durch halbquantitative Auswertung von Glucose/Amin Umsetzungen einerseits und Amadoriprodukt/ortho-Phenylendiamin Umsetzungen andererseits ergaben sich Hinweise, daß Glucose z.T. an der Aminoketose vorbei abgebaut wird.

Die 1-Desoxyhexosulose, die schon lange als Zwischenprodukt der Maillardreaktion postuliert wurde konnte über ein Chinoxalinderivat erstmalig nachgewiesen werden.

Disaccharide bzw. deren Amadoriprodukte reagieren analog. Bei Disaccharidaminoketosen von sekundären Aminen wurde zusätzlich der 4-Desoxyosonweg beobachtet. Als neues Zwischenprodukt konnte die 1,4-Didesoxy-1-piperidinoxosulose nachgewiesen werden.

Weitere Untersuchungen wären erforderlich um zu klären, ob dieser Reaktionsweg auch von analogen Verbindungen primärer Amine eingeschlagen wird.

Bei der Anwendung des Abfangverfahrens mit ortho-Phenylendiamin (OPD) auf Glucose/Glycin Umsetzungsgemische kam es zur Bildung verschiedener Benzimidazole. Anhand von Modellumsetzungen habe ich versucht Hinweise auf potentielle Vorstufen in Zucker/Amin Umsetzungsgemischen zu erhalten. Es zeigte sich, daß sowohl Verbindungen mit Reduktonstruktur wie z.B. enolisierte 1-Desoxyosone als auch deren C-C Spaltprodukte in Frage kommen, die sich entweder auf der Oxidationsstufe von Carbonsäuren oder Aldehyden befinden können.

In diesem Zusammenhang testete ich die Tendenz bestimmter Substanzen zu C-C Spaltungsreaktionen unter Bedingungen die auch beim Erhitzen von Lebensmitteln vorherrschen können.

Durch Modellreaktionen konnte gezeigt werden, daß sowohl 1,2-Dicarbonylverbindungen als auch Reduktone mit primären und sekundären Aminen unter Fragmentierung reagieren.

Experimenteller Teil

=====

Experimenteller Teil

I. Allgemeine Angaben.

1. Schichtchromatographie:

DC-Alufolien, Kieselgel 60 F 254

Schichtdicke 0,2 mm (Merck)

PSC-Fertigplatten, Kieselgel 60 F 254

Schichtdicke 0,5 mm (Merck)

PSC-Fertigplatten, Kieselgel 60 F 254

Schichtdicke 2,0 mm (Merck)

2. Säulenchromatographie:

Kieselgel, Silica-Woelm TSC Aktivität III

3. Niederdrucksäulenchromatographie:

Merck Fertigsäule " Lobar " Größe B

Trennmaterial: Lichroprep RP 18, 40-63 μ m

4. Hochdruckflüssigkeitschromatographie:

Semipräparative Stahlsäule: Merck 50994

250 x 10 MM, 7 μ m, RP 18

Analytische Stahlsäule: Bischoff 25461

250 x 4,6 MM, 5 μ m, RP 18

Gerät: Pumpe: Merck/Hitachi L- 6000 P

UV-Detektor: Merck/Hitachi L-4000

Schreiber: Merck/Hitachi D-2000 Chromato Integrator

5. Gaschromatographie:

Apparate: Perkin Elmer 8320 Capillary Gas Chromatograph,
FID für Kapillarsäulen, Split 1/10

Methode 6: 25 m Permaphase DMS 0,25 μ m, Innendurchmesser
0,25 mm, Perkin-Elmer 698346

Methode 1: 25 m CPMS/1701 0,25 μ m, Innendurchmesser
0,25 mm, Perkin -Elmer 698358

Standardbedingungen für Methode 1 und 6:

Temperatur 1: 100 °C

Temperatur 2: 260 °C

Aufheizrate: 6 °C/min
Isothermalzeit 2: 15 min
Injektortemperatur: 260 °C
Detektortemperatur: 260 °C

6. GC-MS Kopplung

MS-Gerät: Finnigan MAT 8230, 70 eV, Ionenquellentemperatur 200 °C

GC: Carlo Erba 5160, offenes Kopplungssystem

Säule: Permaphase DMS (25 m, 0,32 mm Innendurchmesser, Perkin-Elmer 698349)

7. Massenspektrometrie:

Gerät: Varian MAT CH 7 Mass Spektrometer
(70 eV, Ionenquellentemperatur 230 °C)

8. IR-Spektroskopie:

Gerät: Perkin-Elmer 257 Grating Infrared Spektrophotometer

Feste Substanzen wurden in Kaliumbromid (KBr-Preßling) gemessen.

Flüssige Verbindungen wurden zwischen Natriumchloridfenstern (NaCl) gemessen.

9. UV-Spektroskopie:

Beckmann Spektrophotometer 25

10. ¹H-NMR-Spektroskopie:

Varian T 60 NMR (60 MHz)

Jeol GX 400 (400 MHz)

11. Schmelzpunktbestimmung: unkorrigiert

Mikroheiztisch Fa. L. Hormuth, Heidelberg

12. Siedepunktbestimmung: unkorrigiert

Hochvakuum-Kurzwegdestillation, im Luftbad gemessen

II. Allgemeine Derivatisierungsverfahren.

1. Acetylierung:

100 bis 250 mg Substanz in 10 ml Acetanhydrid und 5 ml Chloroform lösen und nach Zugabe von 0,5 g Natriumacetat (wasserfrei) eine Stunde unter Rückfluß erhitzen. Nach dem Erkalten der Lösung wird im Zweiphasensystem Chloroform/Wasser ausgeschüttelt. Die organische Phase wird einrotiert und der Rückstand am Hochvakuum destilliert.

2. Silylierung:

300 mg Substanz werden in einem dicht verschließbaren Gläschen in 5 ml Pyridin (wasserfrei) gelöst und mit 0,25 ml Trimethylchlorsilan und 0,5 ml Hexamethyldisilazan versetzt. Die Lösung wird über Nacht bei Raumtemperatur stehen gelassen.

3. Enzymatik:

Enzymatische Umsetzungen erfolgten mit Enzymen der Fa. Böhringer/Mannheim nach Vorschrift.

III. Spezielle Arbeitsmethoden.

1. Reduktion von Rhamnose.

1.1. Das Alditolacetatverfahren bzgl. Rhamnose wurde gemäß Literaturangaben (19, 20) durchgeführt.

1.2. Umsetzung von Glucose mit Glycin bei pH 7.

9,9 g Glucosemonohydrat, 3,75 g Glycin, 3 g Dikaliumhydrogenphosphat und 0,5 g Kaliumdihydrogenphosphat wurden in 20 ml Wasser 45 Minuten unter Rückfluß erhitzt. Der abgekühlte Ansatz wurde mit Essigsäureäthylester/Acetonitril im Verhältnis 1/1 gründlich ausgeschüttelt (3 x 50 ml).

Die organische Phase wurde einrotiert, der Rückstand in Wasser gelöst, mit Natriumborhydrid reduziert und dann acetyliert (vgl. exp. Teil 1.1.).

2. Metasaccharinsäurelactone 8 als 3-Desoxyosonfolgeprodukte.

2.1. Die Herstellung von 8 aus 3-O-Methylglucose erfolgte nach Literaturangabe (18).

2.2. Die Herstellung der reduzierten Metasaccharinsäurelactone erfolgte nach Literaturangaben (19, 20).

2.3. Umsetzung von Glucose mit Propylamin bei pH 7.

9,9 g Glucosemonohydrat und 5,95 g Propylammoniumacetat wurden in 30 ml wäßriger Phosphatpufferlösung bei pH 7 eine Stunde unter Rückfluß erhitzt, der Ansatz zur Trockene einrotiert und ein Teil des Rückstandes für die gaschromatographische Untersuchung acetyliert.

2.4. Umsetzung von 8 mit Propylamin bei pH 7:

0,86 g Lacton wurden mit 0,56 g Propylammoniumacetat analog 2.3. umgesetzt und aufgearbeitet.

2.5. Trockenes Erhitzen von 8 mit Glycin:

8 und Glycin wurden zu äquimolaren Teilen in Phosphatpufferlösung pH 7 gelöst, die Lösung zur Trockene einrotiert und der Rückstand eine halbe Stunde im Ölbad bei 130 °C erhitzt. Die gaschromatographische Untersuchung der Schmelze erfolgte nach Acetylierung.

- 2.6. Herstellung des Metasaccharinsäurepropylamids 13:
8 wurde mit Propylamin im Überschuß zwei Stunden unter Rückfluß erhitzt, überschüssiges Amin anschließend abdestilliert. Der Rückstand ging am Hochvakuum (0,1 Torr) zwischen 140 und 165 °C über.
3. Abfangreaktionen mit OPD
- 3.1. Die Herstellung des 2,3-Dimethylchinoxalins 15 erfolgte nach Literaturangaben (25, 26).
- 3.2. Isolierung des Chinoxalins der 3-Desoxyhexosulose 16: Äquimolare Mengen 3-Desoxyhexosulose 5 und OPD wurden in wäßriger Phosphatpufferlösung pH 7 eine Stunde unter Rückfluß erhitzt. Das Lösungsmittel wurde abgezogen, der Rückstand in Methanol gelöst, die Lösung filtriert und eingeeengt. Die Isolierung von 16 erfolgte über präparative DC (1. 2 mm, 2. 0,5 mm Schichtdicke, Kieselgel). Der Rf-Wert lag im Laufmittelsystem Acetonitril/Wasser 19/1 bei etwa 0,3 (0,5 mm).
- 3.3. Fraktionierung von Glucose/Glycin Umsetzungsgemischen.
Die organische Phase der Ausschüttlung des Glucose/Glycin Ansatzes (siehe 1.2.) wurde zur Trockene einrotiert. Der Rückstand, gelöst in wenig Elutionsmittel Acetonitril/Wasser 1/99, wurde über eine Niederdrucksäule mit RP 18 Material getrennt. Am Fraktions-sammler ergaben jeweils 250 Tropfen eine Fraktion. Diejenigen gleicher Zusammensetzung (DC Kontrolle) wurden zu Hauptfraktionen zusammengefaßt. Nach Umsetzung eines Teils jeder Fraktion mit OPD prüfte ich dünn-schichtchromatographisch bzw. nach Acetylierung gaschromatographisch auf das Chinoxalin der 3-Desoxyhexosulose 16.
- 3.4. Die Herstellung des 2-Formyl-3-methylchinoxalins 18 erfolgte nach Literaturangabe (27).
- 3.5. Umsetzung eines Glucose/Glycin Umsetzungsgemisches mit Bleitetraacetat.
Überschüssiges OPD sollte vor der Spaltung entfernt werden (z.B. säulenchromatographisch: Kieselgelsäule. Mit dem Elutionsmittel Essigsäureäthylester wurde nicht umgesetztes OPD von der Säule eluiert. Unter

diesen Bedingungen lief OPD fast mit der Elutionsmittelfront und ließ sich gut von den polareren Reaktionsprodukten trennen. (DC Kontrolle). Anschließend wurden die polareren Verbindungen mit Methanol von der Säule gewaschen (DC Kontrolle).).

Wird OPD nicht entfernt tritt es in Konkurrenz zum vicinalen Diol. (37).

Die Spaltung wurde nach Literaturangaben durchgeführt (28).

3.6. Isolierung von Benzimidazolen aus einem Glucose/OPD Glycin Umsetzungsgemisch.

Der Rückstand der Fraktion, in der nach Umsetzung mit OPD Verbindung 16, das Chinoxalin der 3-Desoxyhexosulose, nachweisbar war (siehe 3.3.) wurde mit OPD (g/g 1/1) in wäßriger Lösung eine Stunde unter Rückfluß erhitzt. Das Umsetzungsgemisch wurde anschließend über präparative DC aufgetrennt. Als erstes Laufmittel verwendete ich Acetonitril. Nach Plattentrocknung wurde im Fließmittelgemisch Acetonitril/Wasser 19/1 entwickelt. Es trennten sich, abgesehen von überschüssigem OPD, das als oberste UV-absorbierende Zone lief, im Wesentlichen 6 Zonen auf. (UV Detektion).

Sie wiesen nach dem zweiten Lauf folgende Rf Werte auf:

Zone 1: 0,2 Zone 2: 0,3 Zone 3: 0,4

Zone 4: 0,5 Zone 5: 0,65 Zone 6: 0,75

Die einzelnen Zonen wurden mit Methanol eluiert und erneut schichtchromatographisch (0,5 mm) getrennt (Fließmittel: Acetonitril/Wasser 19/1). Nach dreimaligem Lauf konnte so aus der ehemaligen Zone 1 eine Verbindung aus einer Bande mit Rf Wert 0,3 gewonnen werden. Aus dem NMR- und MS-Spektrum der acetylierten Verbindung ließ sich deren Struktur ableiten. Die Spektraldaten der synthetisierten Vergleichssubstanz waren in Übereinstimmung mit den Werten von Verbindung 26. Auf analoge Weise wurden die restlichen Zonen aufgearbeitet. Aus Zone 3 erhielt ich Verbindung 25, aus Zone 4, 24. Als Verbindung aus Zone 5 identifizierte ich 23 sowie 22 und als Hauptkomponente ließ sich aus Zone 6 Verbindung 21 abtrennen.

Die folgenden NMR- und MS-Spektren wurden jeweils von den acetylierten Verbindungen erhalten:

- 21: 160(95%, M⁺), 119(60), 118(100), 91(90), 90(85), 64(55), 63(55), 43(80).
- 22: 174(70%, M⁺), 132(50), 131(100), 104(40), 92(40), 92(40), 91(50), 64(50), 43(50).
- 23: 232(50%, M⁺), 190(60), 174(70), 160(80), 148(90), 147(95), 132(90), 131(85), 119(70), 118(80), 103(50), 91(70), 90(70), 77(50), 64(70), 63(70), 43(100).
- 24: 304(2%, M⁺), 244(3), 219(5), 202(8), 176(4), 160(8), 159(40), 146(20), 132(10), 119(5), 118(5), 92(4), 91(4), 77(10), 43(100).
- 25: 376(2%, M⁺), 316(5), 291(30), 274(40), 232(50), 231(45), 190(20), 189(40), 173(85), 159(10), 148(30), 147(80), 119(15), 118(10), 84(15), 77(10), 43(100).
- 26: 520(1%, M⁺), 478(2), 460(2), 435(10), 419(6), 418(4), 476(5), 317(20), 281(10), 273(10), 232(30), 231(30), 219(15), 190(45), 181(45), 169(50), 161(20), 148(20), 147(90), 131(80), 119(80), 118(10), 43(100).

¹H-NMR (60 MHz), Substanzen gelöst in DCCl₃:

21: ppm

2,70 (s, 3H), 7,60 (m, 4H), 8,40 (s, 1H).

22: ppm

2,86 (s, 3H), 2,93 (s, 3H), 7,66 (m, 4H).

23: ppm

2,20 (s, 3H), 2,80 (s, 3H), 5,60 (s, 2H), 7,60 (m, 4H).

24: ppm

2,00 (s,3H), 2,13 (s,3H), 2,83 (s,3H), 4,66 (d,2H,I=6Hz),
6,60 (t,1H,I=6Hz), 7,60 (m,4H).

25: ppm

1,93 (s,3H), 2,03 (s,3H), 2,16 (s,3H), 2,83 (s,3H),
4,56 (t,2H,I=6Hz), 5,76 (m,1H), 6,66 (d,1H,I=4Hz),
7,56 (m,4H).

26: ppm

1,96 (s,3H), 2,06 (s,3H), 2,10 (s,3H), 2,13 (s,3H), 2,16 (s,3H),
2,83 (s,3H), 4,33 (t,2H,I=6Hz), 5,35 (m,1H), 5,65 (t,1H,I=4Hz),
6,13 (t,1H,I=4Hz), 6,73 (d,1H,I=4Hz), 7,66 (m,4H).

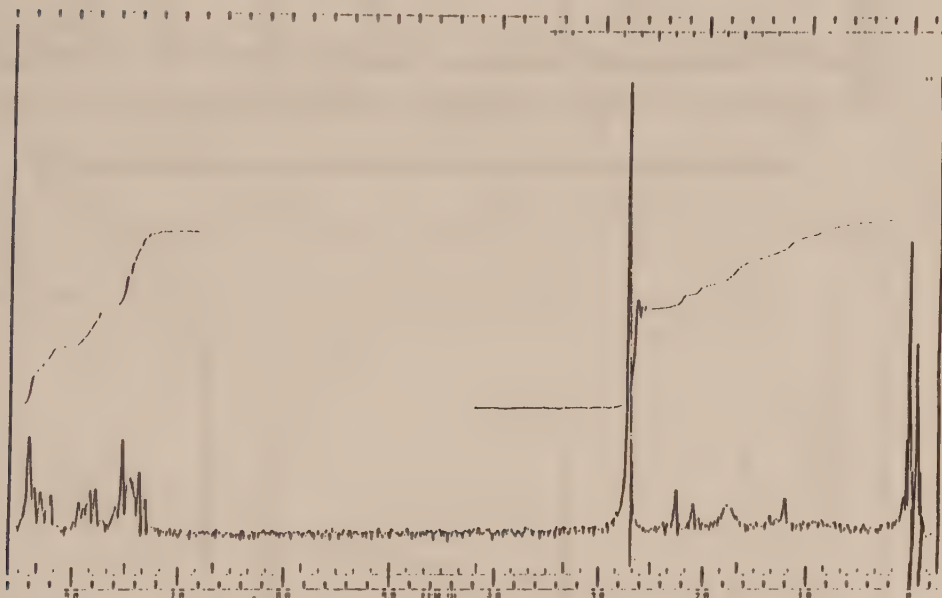


Abb. 13: ^4H -NMR Spektrum der acetylierten Verbindung 21.

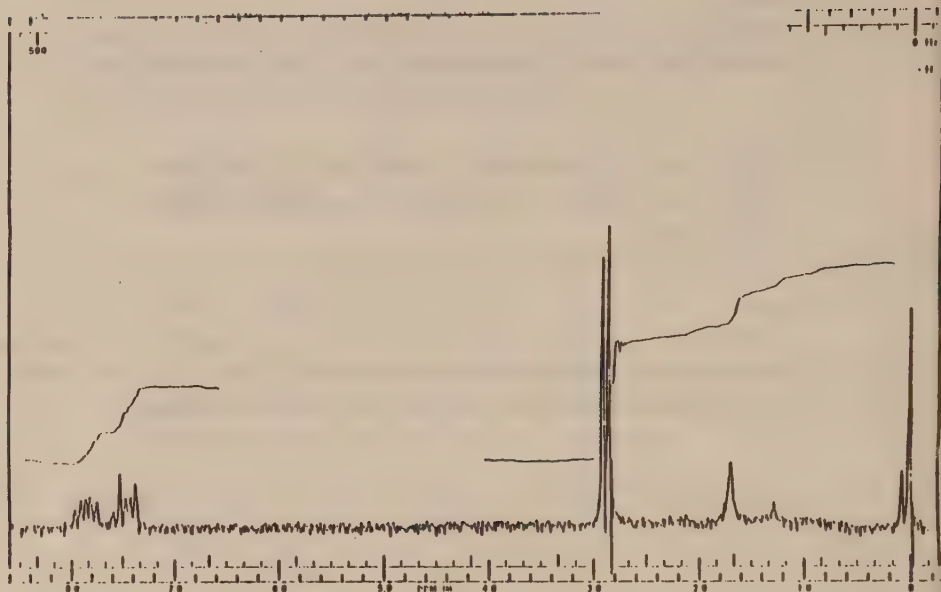


Abb. 14: ^4H -NMR Spektrum der acetylierten Verbindung 22.

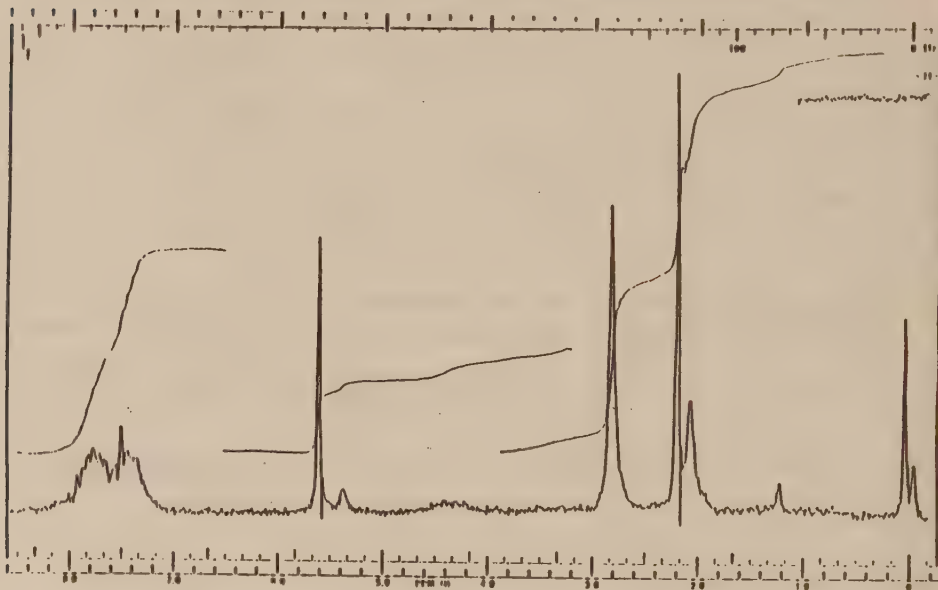


Abb. 15: ^4H -NMR Spektrum der acetylierten Verbindung 23.

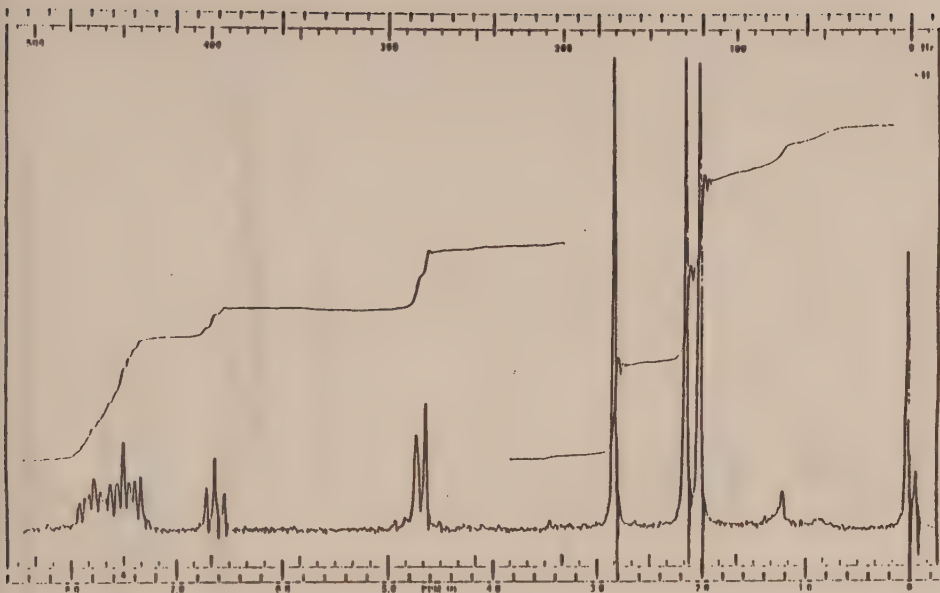


Abb. 16: ^1H -NMR Spektrum der acetylierten Verbindung 24.

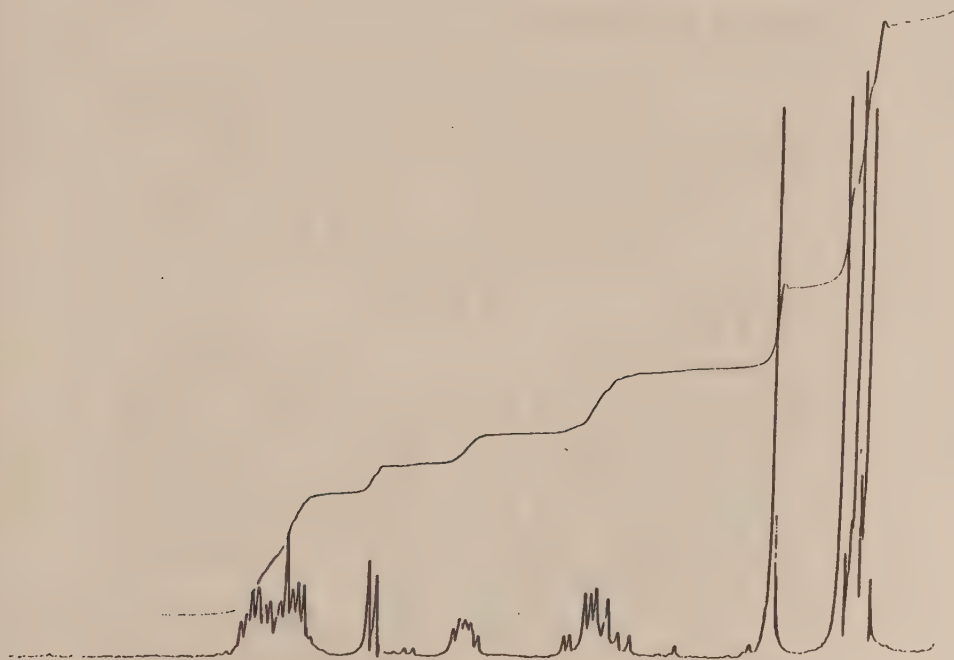


Abb. 17: ^1H -NMR Spektrum der acetylierten Verbindung 25.

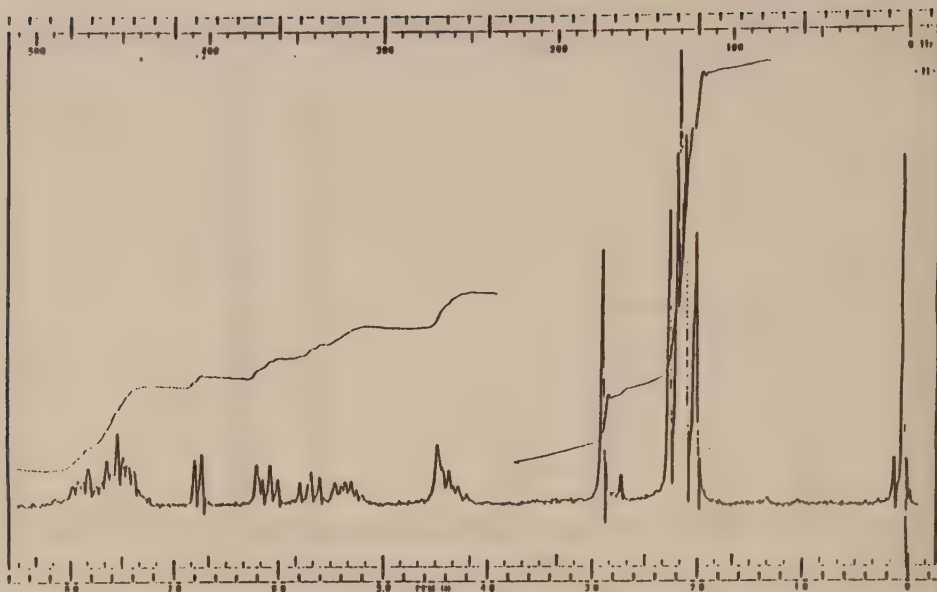


Abb. 18: ^1H -NMR Spektrum der acetylierten Verbindung 26.

3.7. Synthese der Benzimidazole 21 bis 26.

Die Herstellung erfolgte für die Ameisen-, Essig-, Glycol- und Glycerin-säurederivate aus den jeweiligen Säuren nach Literaturangabe (39). Die Benzimidazole der Erythron- und Glucon-säure wurden aus den entsprechenden Lactonen synthetisiert. Gluconolacton ist käuflich, Erythronolacton wurde nach Literaturangabe hergestellt (38).

3.8. Umsetzung von Furfural 19 mit OPD:

1,08 g OPD wurden mit 1,20 g Furfural in wäßriger Phosphatpufferlösung (pH 7) eine Stunde unter Rückfluß erhitzt. Das Benzimidazol 20 wurde nach Ansäuerung und Zugabe von Methylenchlorid in die organische Phase ausgeschüttelt. Das Massenspektrum zeigte eindeutig, daß die Reaktion nicht auf der Stufe des Dihydrobenzimidazols stehengeblieben ist, sondern bis zum Benzimidazol führte:

MS: 184(100%, M^{+}), 156(30), 155(30), 129(20), 103(10), 102(10), 92(10), 77(7), 63(7), 51(6).

Auch aus dem ^1H -NMR Spektrum ist eindeutig ersichtlich, daß es sich um ein Benzimidazol handelt:

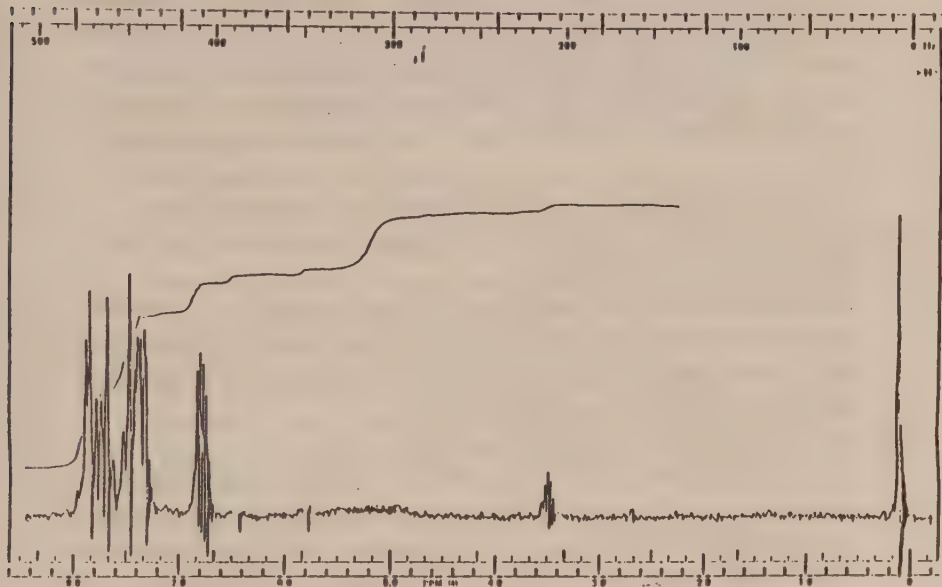


Abb. 19: ^1H -NMR Spektrum von Verbindung 20. (DCCl_3)

3.9. Umsetzung von Erythrose 50b mit OPD:

0,4 g Erythrose wurden mit 0,324 g OPD

a) in wäßriger Phosphatpufferlösung bei pH 7

b) in wäßriger Lösung (mit Salzsäure auf pH 4,5
eingestellt)

jeweils eine Stunde unter Rückfluß erhitzt.

4. Modellversuche zur C-C Spaltung.

4.1. Umsetzung von Phenylglyoxal 27 mit Piperidin bzw. Propylamin:

0,01 Mol Piperidin wurden mit Essigsäure ins Acetat überführt. Das Salz wurde in wäßriger Phosphatpufferlösung bei pH 7 mit 0,01 Mol Phenylglyoxalhydrat zwei Stunden unter Rückfluß erhitzt. Der Versuch wurde analog unter Stickstoffatmosphäre durchgeführt. Anschliessend wurde mit Salzsäure leicht angesäuert (pH 4,5) und mit Diäthyläther ausgeschüttelt. Die verbliebene Wasserphase wurde mit OPD versetzt und eine Stunde unter Rückfluß erhitzt. Nach Neutralisierung wurde die Lösung zur Trockene einrotiert

und der Rückstand, soweit löslich, in Methanol aufgenommen. Die methanolische Lösung wurde filtriert. Bei diesem Verfahren konnte der größte Teil der Puffersubstanzen abfiltriert werden. Über das gebildete Benzimidazol 21 wurde die Ameisensäure nachgewiesen (gaschromatographisch).

Die Umsetzung von 27 mit Propylamin erfolgte analog.

4.2. Herstellung der Piperidin- und Propyl-amide der Ameisen-, Benzoe- und Mandel-säure:

Die Methylester der jeweiligen Säuren wurden in überschüssigem Amin drei Stunden unter Rückfluß erhitzt. Anschließend wurde überschüssiges Amin abgezogen und das entsprechende Amid am Hochvakuum destilliert.

4.3. Umsetzung des Triosereduktions 37 mit OPD:

0,22 g 37 wurden mit 0,54 g OPD in wäßriger Phosphatpufferlösung (pH 7) eine Stunde unter Rückfluß erhitzt. Nach weitgehender Entfernung des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde der Rückstand in Methanol aufgenommen und die Lösung filtriert (vgl. 4.1.). Das Filtrat wurde einrotiert, der dabei erhaltene Rückstand acetyliert und gaschromatographisch untersucht.

4.4. Umsetzung einer nach Säurehydrolyse aus 49a dem 3-Acetoxy-5,6-O-isopropyliden-2,4-hexandion erhaltenen Verbindung mit OPD.

1,5 mMol der nach Literaturangabe (47) hergestellten Vorstufe von Verbindung 3, nämlich 49a wurden in 20 ml wäßriger Oxalsäurelösung (10 %) eine Stunde auf 50 °C erwärmt (zur Freisetzung von 3). Zu dieser Lösung wurden 3 mMol OPD gegeben. Nach Einstellen dieser Lösung auf pH 7 (mit wäßriger Phosphatpufferlösung) wurde sie unter Rückfluß eine Stunde erhitzt. Die Reaktion wurde auch bei pH 4,0 und 5,5 (mit Phosphatpufferlösung auf den jeweiligen Wert eingestellt) durchgeführt. Nach Neutralisation wurden die Puffersubstanzen, wie beschrieben, abgetrennt. Die gaschromatographische Untersuchung erfolgte nach Acetylierung.

4.5. Herstellung des Chinoxalins des 1-Desoxyosons der Erythrose 53:

18 wurde nach Literaturangaben (19, 20) mit Natriumborhydrid zu 53 reduziert, dann acetyliert.

4.6. Herstellung des Chinoxalins des 3-Desoxyosons der Erythrose 52:

52 wurde nach Literaturangabe (28) durch Bleitetraacetatspaltung aus 16 und anschließender Reduktion mit Natriumborhydrid (vgl. 4.5.) hergestellt.

4.7. Umsetzung von Glucose bzw. Glucose/Glycin Reaktionsprodukten mit OPD:

a) Die Reaktion von Glucose mit OPD bei pH 10 erfolgte nach Literaturangaben (34, 48), allerdings nicht unter Sauerstoffausschluß. Aufgearbeitet wurde nach dem angegebenen Butanol-Ausschüttlungsverfahren und anschließender Acetylierung.

b) Reaktion von Glucose mit OPD bei pH 7:

2,16 g OPD wurden in wäßriger Phosphatpufferlösung bei pH 7 mit 1,98 g Glucosemonohydrat eine Stunde unter Rückfluß erhitzt. Aufarbeitung erfolgte wie unter 4.7.a.

c) Die Reaktion von Glucose mit OPD in Gegenwart von Glycin bei pH 7 erfolgte analog 4.7.b, unter Zugabe von 0,01 Mol Glycin.

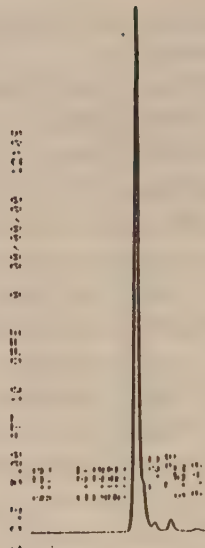
d) Die Umsetzung erfolgte analog 1.2.

Die ausgeschüttelte organische Phase des nach 1.2. hergestellten Glucose/Glycin Umsetzungsgemisches wurde einrotiert, der Rückstand in Wasser gelöst und mit OPD umgesetzt. Aufarbeitung erfolgte wie oben.

4.8. Herstellung des Chinoxalins der 4-Desoxyhexosulose 57:

Die Verbindung wurde aus einem Modellansatz nach Literaturangaben isoliert (34).

Abb. 20: HPLC Chromatogramm
von Verbindung 57.
Bedingungen siehe
5.3 und 5.7
Retentionszeit von
57: 5,92 Minuten



5. Reaktionen von 1-Desoxy-1-aminofructosen mit OPD

5.1. Umsetzung der 1-Desoxy-1-piperidino-fructose 59 mit OPD:

Eine Mischung von 59 (1,24 g) und OPD (1,1 g) wurden in 50 ml wäßriger Phosphatpufferlösung zehn Stunden unter Rückfluß erhitzt. Die dünnschichtchromatographische Überprüfung zeigte, daß keine Ausgangsverbindung mehr vorhanden und eine neue Verbindung gebildet worden war. Die Reaktionslösung wurde einrotiert, am Hochvakuum getrocknet und der Rückstand dann in Methanol aufgenommen. Durch Filtration wurden unlösliche Puffersalze abgetrennt. Das Filtrat wurde einrotiert und das neue Produkt vom Rückstand durch Kieselgelsäulentrennung mit Elutionsmittel Essigsäureäthylester/Methanol 1/1 abgetrennt. Die Fraktion, welche die neue Verbindung enthielt (DC Kontrolle), wurde über präparative DC (0,5 mm) im Laufmittelsystem Acetonitril/Wasser 19/1 weiter aufgetrennt. Die Zone mit Rf Wert 0,5 - 0,6 wurde mit Methanol eluiert. Nach Einengen und Abkühlen der methanolischen Lösung kristallisierte 17, das Chinoxalin der 1-Desoxyhexosulose aus. Die Ausbeute bezüglich eingesetzter

1-Desoxy-1-piperidino-fructose 59 betrug ca. 0,82 g (70 %). Analoge Umsetzungen führte ich bei pH 1, 2, 4, 8,5 und 10 durch. Für die sauren Bedingungen wurden die Reaktionslösungen mit Salzsäure auf den jeweiligen pH Wert eingestellt. PH 8,5 ergab sich beim Mischen von 5 mMol 59 mit 10 mMol OPD in 50 ml Wasser und die Umsetzung bei pH 10 erfolgte im entsprechenden Carbonatpuffer.

5.2. Malapradespaltung von Verbindung 17, dem Chinoxalin der 1-Desoxyhexosulose:

Eine Lösung von 17 (65 mg, 0,27 mMol), Natriumperjodat (120 mg, 0,54 mMol) und Natriumhydrogencarbonat (30 mg, 0,54 mMol) in Wasser (10 ml) wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Ausschüttlung der wäßrigen Lösung mit Diäthyläther (3 x 20 ml) wurden die vereinigten Ätherextrakte einrotiert und der Rückstand bei 0,1 Torr destilliert. Im Temperaturbereich von 90 bis 115 °C ging 18 in die Destillationsbrücke über. Nach Umkristallisierung aus Essigsäureäthylester erhielt ich das kristalline Chinoxalin 18.

Spektraldaten von Verbindung 17, dem Chinoxalin der 1-Desoxyhexosulose:

Schmelzpunkt: 169-170 °C,

¹H-NMR Spektraldaten (D₃COD): ppm

2,92 (s, 3H), 4,08 (m, 2H), 4,26 (m, 1H), 5,27 (d, 1H, I=8Hz), 8,03 (m, 4H).

Elementaranalyse berechnet für C 12, H 14, N 2, O 3:

C 61,5 %, H 6,02 %, N 12,0 %

gefunden:

C 61,4 %, H 5,99 %, N 11,9 %

MS: 234 (1%, M⁺), 174 (20), 173 (10), 156 (10), 145 (15), 143 (20), 115 (5), 102 (10), 77 (15), 76 (10), 69 (15), 58 (60), 43 (100).

IR: 1595, 1550, 1470, 1000, 750 cm⁻¹ (KBr).

17 acetyliert:

Siedepunkt bei 0,1 Torr: 105 °C.

¹H-NMR Spektraldaten (DCCl₃): ppm

1,90 (s, 3H), 2,03 (s, 3H), 2,11 (s, 3H), 2,90 (s, 3H), 5,63 (m, 1H), 6,30 (d, 1H, I=7Hz), 7,87 (m, 4H).

MS: 360(0,4%, M^+), 317(0,5), 301(6), 259(9), 241(17), 216(40),
199(46), 174(96), 173(16), 143(16), 43(100).

Spektraldaten von Verbindung 18, dem 2-Formyl-3-methylchinoxalin:

Schmelzpunkt: 135 °C,

1H -NMR Spektraldaten ($CDCl_3$): ppm

2,93(s,3H), 7,92(m,4H), 10,29(s,1H).

MS: 172(100%, M^+), 144(100), 143(100), 117(42), 102(100),
76(83), 75(83).

5.3. Reduktion von 18 zu 53, dem Chinoxalin des 1-Desoxyosons der Erythrose (vgl. 2.2.)

Spektraldaten von 53:

1H -NMR ($CDCl_3$): ppm

2,65(s,3H), 4,85(s,2H), 7,90(m,4H).

53 acetyliert:

1H -NMR ($CDCl_3$): ppm

2,20(s,3H), 2,80(s,3H), 5,50(s,2H), 7,95(m,4H).

MS: 216(40%, M^+), 174(90), 173(90), 157(30), 156(60), 143(40),
132(20), 118(25), 117(30), 102(30), 91(30), 89(20), 77(20),
76(30), 43(100).

Abb. 21: Gaschromatogramm
der acetylierten
Verbindungen 16
und 17
Methode 6
Retentionszeiten:
16 acetyliert:
27,21 Minuten
17 acetyliert:
25,73 Minuten

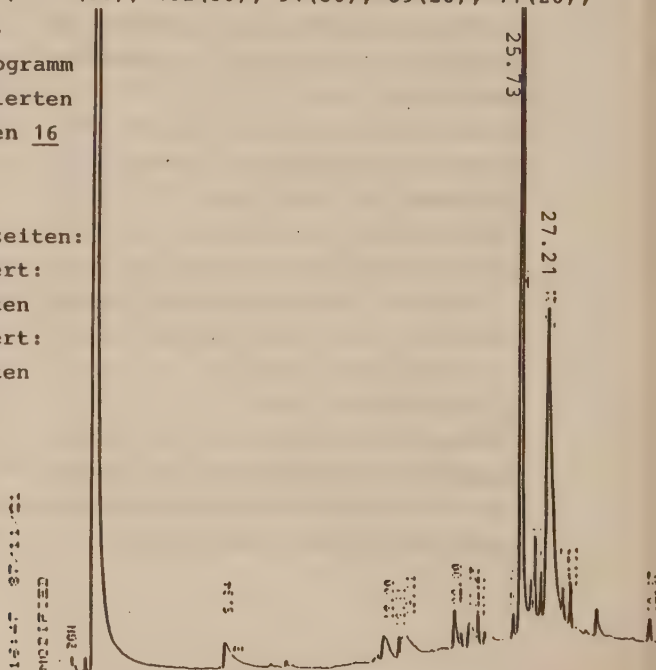


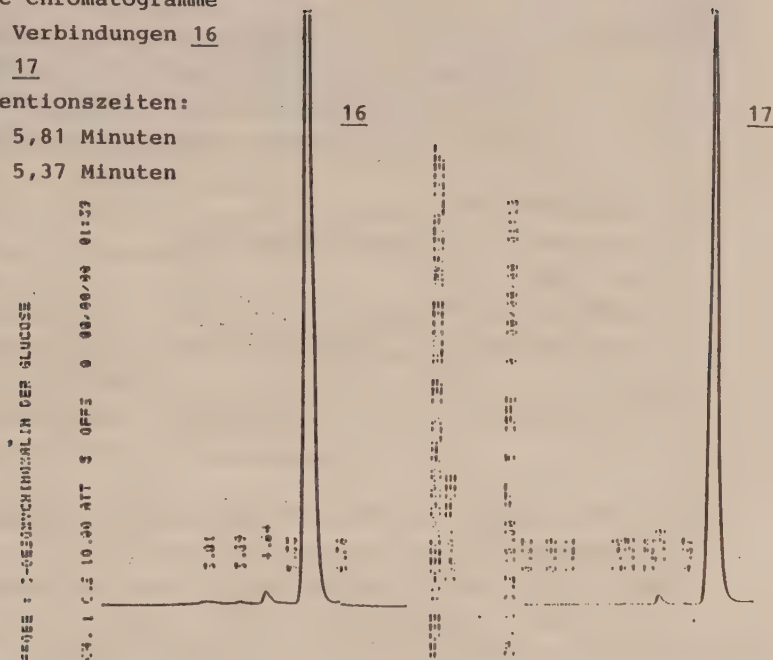
Abb. 22:

HPLC Chromatogramme
der Verbindungen 16
und 17

Retentionszeiten:

16: 5,81 Minuten

17: 5,37 Minuten



5.4. 60, das Amadoriprodukt aus Glucose und Propylamin wurde nach Literaturangabe (52) hergestellt.

5.5. 61, das Amadoriprodukt aus Glucose und para-Toluidin wurde nach Literaturangabe (53) hergestellt.

5.6. 62, das Amadoriprodukt aus Glucose und Tryptophan wurde nach Literaturangabe (54) hergestellt.

5.7. Umsetzung von 60, 61, 62 mit OPD:

Eine Mischung von 1 mMol 60, bzw. 61, bzw. 62 und 2 mMol OPD in 10 ml Wasser (pH 7 Phosphatpuffer, bzw. für pH 4,5 mit Salzsäure entsprechend eingestellt) wurde zehn Stunden unter Rückfluß erhitzt. Die Reaktionslösung wurde einrotiert, am Hochvakuum getrocknet, der Rückstand in Methanol gelöst und unlösliche Puffersubstanzen abfiltriert. Nach Acetylierung erfolgte die gaschromatographische Untersuchung.

Analytikdaten für die HPLC- bzw. GC-Bestimmung von 16 und 17:

GC-Methode 6:	<u>16</u> acetyliert	Retentionszeit	27,21 Minuten
	<u>17</u> acetyliert	Retentionszeit	25,73 Minuten
GC-Methode 1:	<u>16</u> acetyliert	Retentionszeit	28,40 Minuten
	<u>17</u> acetyliert	Retentionszeit	26,56 Minuten

HPLC: analytische Stahlsäule

Elutionsmittel: Methanol/Wasser 4/6

Durchfluß 1 ml/min

Detektion bei 320 nm

Retentionszeit von 16: 5,81 Minuten (vgl. Chromatogramm
Seite 78)

Retentionszeit von 17: 5,37 Minuten (vgl. Chromatogramm
Seite 78)

5.8. Die Umsetzung von Glucose mit Piperidin bzw. Glycin in Gegenwart von OPD erfolgte wie unter 3.9.

Zucker, Amin und OPD wurden jeweils äquimolar eingesetzt (0,025 Mol). Aufgearbeitet wurde wie unter 5.7.

6. Versuche zum aminkatalysierten Disaccharidabbau.

6.1. Umsetzung der Verbindung 63, der 1-Desoxy-1-piperidinomaltulose mit OPD:

4,09 g (0,01 Mol) 63 wurden mit 1,08 g (0,01 Mol) OPD in 50 ml Wasser bei pH 5,5 , 7 und 8 zehn Stunden unter Rückfluß erhitzt. Die Reaktionslösung wurde anschliessend neutralisiert und mit Methylenchlorid ausgeschüttelt (3 x 30 ml).

6.2. Isolierung von 68, dem Chinoxalin der 1,4-Didesoxy-1-piperidinoheksulose:

Der Rückstand der organischen Phase (vgl. 6.1.) wurde über präparative DC (2 mm) aufgetrennt (Laufmittel, Acetonitril/Wasser 19/1) und die Zone mit Rf Wert 0,25 mit Methanol eluiert. Die weitere Reinigung erfolgte niederdrucksäulenchromatographisch an einer RP 18 Phase (Elutionsmittel Wasser/Methanol 1/1 mit Salzsäure auf pH 3,8 eingestellt, Detektion bei 320 nm , Fließmittelgeschwindigkeit 4 ml/min).

Nach 17 Minuten enthielt das Eluat Verbindung 68 (DC Kontrolle). Die entsprechenden Fraktionen wurden gesammelt, neutralisiert, eingengt und der so erhaltene Rückstand im Zweiphasensystem Methylenchlorid/Wasser ausgeschüttelt. Die organische Phase enthielt Verbindung 68.

HPLC Standardbedingungen zum Nachweis von 68:

Analytische Stahlsäule

Elutionsmittel: Methanol/Wasser 6/4

Fließmittelgeschwindigkeit: 1 ml/min

Detektion bei 320 nm

Retentionszeit von 68: 8,25 Minuten

HPLC Chromatogramm von Verbindung 68 siehe Seite 82.

Die acetylierte Verbindung 68 ist bei 0,1 Torr zwischen 150 und 160 °C destillierbar.

Spektraldaten von Verbindung 68:

hellgelbes, zähes Öl

$^1\text{H-NMR}$ (DCCl_3) : ppm

1,53(m,6H), 2,63(m,4H), 3,33(d,2H,I=6Hz), 3,77(s,2H),
3,80(dd,2H,I=14 u. 7Hz), 4,25(m,1H), 8,0(m,4H).

MS: 301(5%, $\text{M}^{+\bullet}$), 270(10), 218(85), 184(10), 169(15), 159(100),
158(100), 98(95), 84(100), 55(60).

68 acetyliert:

hellgelbes Öl

Siedepunkt bei 0,1 Torr: 150 - 160 °C

$^1\text{H-NMR}$ (DCCl_3) : ppm

1,53(m,6H), 2,03(s,3H), 2,13(s,3H), 2,53(m,4H), 3,60(d,2H,
I=6Hz), 3,90(dd,2H,I= 4 u. 1Hz), 4,46(dd,2H,I= 6 u. 3Hz),
6,00(m,1H), 8,0(m,4H).

MS: 385(1%, $\text{M}^{+\bullet}$), 301(50), 243(7), 199(10), 183(70), 169(65),
158(50), 98(50), 84(95), 77(10), 55(20), 43(100).

IR: 3050, 2920, 1730, 1355, 1220, 1030, 750. cm^{-1} (NaCl).

6.3. Isolierung von 67, des Chinoxalins des 1-Desoxyosons der Maltose:

Die wäßrige Phase (siehe 6.1.) wurde zur Trockene einrotiert, der Rückstand in heißem Methanol gelöst, die Lösung filtriert und das Filtrat eingengt. Aus der methanolischen Lösung kristallisierte beim Abkühlen Verbindung

67 aus. Die Verbindung wurde aus Methanol umkristallisiert und ein Teil acetyliert.

Spektraldaten der Verbindung 67:

farblose Kristalle

Schmelzpunkt: 197 °C, unkorrigiert

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- D_6): ppm

2,93(s,3H), 3,2 bis 5,3(m,17H), 8,1(m,4H).

Elementaranalyse berechnet für C 18, H 24, N 2, O 8:

C 54,54 %, H 6,11 %, N 7,06 %

gefunden:

C 54,31 %, H 6,32 %, N 6,94 %

MS: 396(1%, M^{+}), 336(2), 318(5), 287(2), 218(10), 203(25),
187(50), 174(60), 159(60), 158(100), 157(75), 143(40),
130(15), 117(50), 102(30), 89(50), 76(45), 43(60).

67 acetyliert:

farblose Kristalle

Schmelzpunkt: 166 °C,

$^1\text{H-NMR}$ (DCCl_3): ppm

1,90(s,3H), 2,00(s,3H), 2,03(s,3H), 2,06(s,3H), 2,09(s,3H),
2,12(s,3H), 2,93(s,3H), 4,20 bis 5,70(m,11H), 7,96(m,4H).

MS: 648(1%, M^{+}), 588(3), 528(1), 504(4), 488(2), 446(2),
347(4), 331(20), 302(70), 301(70), 243(65), 242(70),
229(40), 200(70), 199(65), 187(60), 183(65), 171(55),
169(60), 143(45), 127(40), 109(70), 43(100).

IR: 3050, 2950, 1730, 1360, 1210, 1015, 750 cm^{-1} (KBr).

Spektraldaten des α -Glucosidasespaltprodukts vgl. 5.1.

6.4. Abspaltung des Glucoserests aus Verbindung 67:

Verbindung 67 wurde einer α -Glucosidasespaltung unterzogen. 0,16 g (0,4 mMol) 67 in 5 ml Acetatpuffer (pH 6,6: 0,68 g Natriumacetattrihydrat in 40 ml Wasser gelöst, mit Essigsäure auf pH 6,6 eingestellt und mit Wasser auf 50 ml aufgefüllt) gelöst, wurden mit 20 μl α -Glucosidase (Böhlinger 105414) versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur stehen gelassen. Nach Neutralisierung der wäßrigen Lösung wurde diese mit n-Butanol (3 x 5 ml)

ausgeschüttelt, die Butanolphase über Natriumsulfat getrocknet, zentrifugiert, filtriert und dann zur Trockene einrotiert. Der Rückstand wurde aus Methanol umkristallisiert und lieferte farbloses Chinoxalin der 1-Desoxyhexosulose 17.

Schmelzpunkt und, nach Acetylierung, Retentionszeit des Peaks im Gaschromatogramm stimmten mit denen von Verbindung 17 überein.

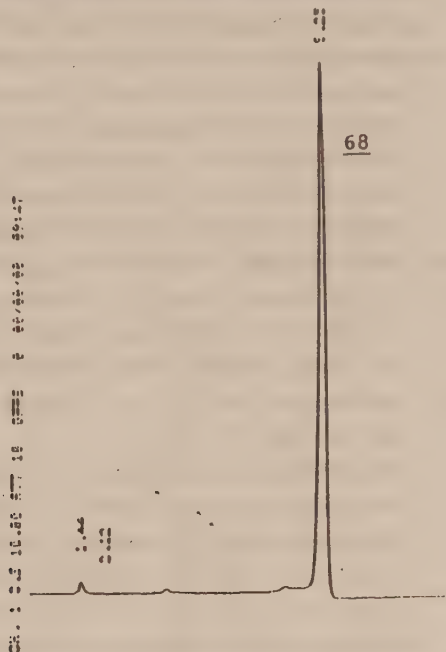
Abb. 23:

HPLC Chromatogramm der Verbindung 68.

Retentionszeit:

8,25 Minuten

Bedingungen siehe 6.2.



6.5. Prüfung auf die Bildung von 69, dem Chinoxalin des 3-Desoxyosons der Maltose:

Ein Teil des neutralisierten Reaktionsansatzes (siehe 6.1.) wurde zur Trockene einrotiert und einer α -Glucosidasespaltung unterzogen (vgl. 6.4.). Nach Acetylierung erfolgte die Untersuchung gaschromatographisch.

6.6. Versuch des Nachweises von 68 in 1-Desoxy-1-piperidino-fructose/OPD Umsetzungsgemischen:

Ein Reaktionsansatz pH 7 (vgl. 5.1.) wurde mit Methylenchlorid ausgeschüttelt und die organische Phase unter Standardbedingungen (vgl. 6.2.) hochdruckflüssigchromatographisch untersucht.

6.7. Herstellung der 1-Desoxy-1-propylaminomaltulose 70:

Maltose und Propylamin wurden im Verhältnis (molar) 1/5 bei 65 °C gerührt, bis sich eine klare, leicht gelb gefärbte Lösung gebildet hatte. Sobald die Gelbfärbung erkennbar wurde, wurde die Lösung in einen großen Überschuß an Diäthyläther gegossen. Es fiel ein farbloser Niederschlag aus (überschüssiges Amin ging in Lösung). Das Glycosylamin wurde abgenutscht, gründlich mit Diäthyläther gewaschen und dann in einem Gemisch aus Methanol/Äthanol/Isopropanol 1/1/1 gelöst. Zu dieser Lösung wurde methanolische Oxalsäurelösung gegeben. Dabei fiel das Oxalat von 70 aus. Der Niederschlag wurde abgenutscht. (DC Kontrolle, Detektion: Sprühreagenz Triphenyltetrazoliumchlorid).

6.8. Umsetzung des Oxalats von 70 mit OPD

2,37 g Oxalat von 70 (5 mMol) wurden mit 0,54 g OPD (5 mMol) in 50 ml wäßriger Phosphatpufferlösung pH 7 zehn Stunden unter Rückfluß erhitzt.

6.9. Isolierung von 69, dem Chinoxalin des 3-Desoxyosons der Maltose:

Der Ansatz (siehe 6.9.) wurde mit Methylenchlorid ausgeschüttelt und dann zur Trockene einrotiert. Der Rückstand wurde in Methanol gelöst, die Lösung filtriert, das Filtrat konzentriert und säulenchromatographisch gereinigt. Mit dem Elutionsmittelgemisch Essigsäureäthylester/Methanol 8/2 wurden die unpolaren bis mittelpolaren Substanzen eluiert und anschließend mit Methanol die polaren Verbindungen von der Säule gewaschen (DC Kontrolle). Die weitere Auftrennung der polaren Substanzen wurde hochdruckflüssigchromatographisch (semipräparative Stahlsäule, Elutionsmittel Methanol/Wasser 4/6, Detektion bei 320 nm) durchgeführt. Die Fraktionen der Hauptpeaks wurden gesammelt und auf einer analytischen Säule überprüft (Elutionsmittel Methanol/Wasser 4/6 Fließgeschwindigkeit 1 ml/min, Detektion bei 320 nm). Mit einer Retentionszeit von 3,88 Minuten wurde 67, nach 4,67 Minuten 69 eluiert. Das ¹H-NMR Spektrum zeigt, daß

69 mit einem Benzimidazol verunreinigt war. Über die Interpretation der Spektraldaten wurde als Verunreinigung das Benzimidazol der Maltonsäure vermutet. Die Aufnahme eines FAB Massenspektrums bestätigte dies.

Nach α -Glucosidasespaltung (vgl. 6.4.) und Acetylierung ließ sich 69 gaschromatographisch indirekt über 16 nachweisen.

FAB Massenspektraldaten von 69, dem Chinoxalin des 3-Desoxyosons der Maltose und 71, dem Benzimidazol der Maltonsäure:

+ FAB (5×10^{-5} T, Xe, 7 KV, Glycerin + LiCl)

Masse 403 = 69 + Li⁷⁺ (396 + 7)

397 = 69 + H⁷⁺ (396 + 1)

437 = 71 + Li⁷⁺ (430 + 7)

431 = 71 + H⁷⁺ (430 + 1)

Abb. 24:

HPLC Chromatogramm
der Verbindungen

67 und 69

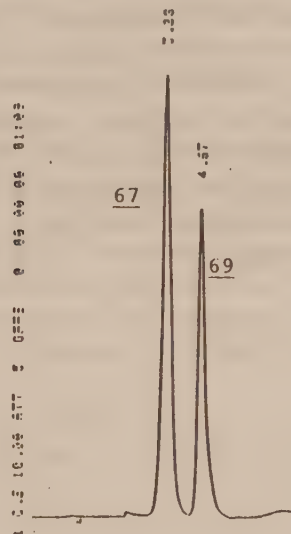
Retentionszeiten:

67 : 3,88 Minuten

69 : 4,67 Minuten

Bedingungen siehe

5.7.



7. Weitere Untersuchungen zum Abbau von Aminoketosen

7.1. Umsetzungen der 1-Desoxy-1-propylaminofructose 60:

a) 1 mMol 60 wurde in 15 ml wäßriger Phosphatpufferlösung (pH 7) zweieinhalb Stunden unter Rückfluß erhitzt.

b) wie a) aber unter Zusatz von 1 mMol Propylammoniumchlorid.

c) 1 mMol 60 in wäßriger Lösung (15 ml) wurde auf pH 5 eingestellt (mit Salzsäure) und zweieinhalb Stunden unter Rückfluß erhitzt.

Die Reaktionslösungen a bis c wurden zur Trockene einrotiert , der Rückstand in Methanol suspendiert und die Suspension filtriert. Das Filtrat wurde einrotiert und ein Teil silyliert. Die weitere Untersuchung erfolgte gaschromatographisch.

GC Methode 6:

Retentionszeiten: <u>58</u> direkt	5,20 Minuten
<u>58</u> silyliert	11,10 "
<u>74</u> direkt	12,15 "
<u>74</u> silyliert	12,95 "

8. Umsetzung von Glucose mit Triäthylamin:

- a) 0,01 Mol Triäthylamin wurden in 20 ml Wasser mit Salzsäure auf pH 5 eingestellt. Dann wurden 0,01 Mol Glucose zugegeben und die Lösung drei Stunden unter Rückfluß erhitzt. Nach Abrotieren des Lösungsmittels wurde der Rückstand in Methanol suspendiert, filtriert, das Filtrat einrotiert und ein Teil silyliert. Die Untersuchung erfolgte gaschromatographisch.
- b) Die Untersuchung wurde analog bei pH 7 (Phosphatpuffer) durchgeführt.

Literaturverzeichnis

- (1) Maillard L.C. (1912) C.R. hebéd. Seances Acad. Sci.154:66
- (2) Anet E.F.L.J. (1964) Adv. Carbohydr. Chem.19:181
- (3) Ohloff G., Flament J. (1978) Heterocycles11:663
- (4) Shibamoto T. (1980) J. Agric. Food Chem.28:237
- (5) Weidemann H.L., Mohr W. (1970) Lebensm. Wiss. Technol.:3: 23
- (6) Schank K. (1972) Synthesis:176
- (7) Mills F.D., Hodge J.E., Tjarks C.W. (1981) J. Org. Chem. 46:3597
- (8) Oeste R., Björk J., Dahlquist A., Jägerstad M., Södin P. (1983) ACS Symp.215:406
- (9) Tucker B.W., Riddle V., Liston J. (1983) ACS Symp. 215:395
- (10) Nagao M.,Honda M.,Seino Y.,Yahagi T.,Sugimura T. (1977) Cancer Letters2:335
- (11) Powrie W.D.,Wu C.H.,Rosin M.P., Stick H.F. (1981) J. Food Sci.46:1433
- (12) Monnier V.M.,Cerami A. (1983) ACS Symp.215:430
- (13) Mills F.D.,Baker B.G.,Hodge J.E. (1969) J. Agric. Food Chem.17:723
- (14) Paulsen H.,Pflughaupt K.W. (1980) The Carbohydrates Chem. and Biochem.:881 Pigman,Horton Hrsg.,NewYork
- (15) Heyns K. (1977) Deutsche Lebensm. Rundschau73:111
- (16) Olsson K.,Pernemalm P.,Theander O. (1978) Acta Chem. Scand. B32:249
- (17) Machell G.,Richards G.N. (1960) J. Chem. Soc.:1938
- (18) Corbett W.M. (1963) Methods in Carbohydrate Chemistry Vol 2:482
- (19) Lehrfeld J. (1985) J. Anal. Chem.57:346
- (20) Sloneker J.H. Methods in Carbohydrates Chemistry (1972) Vol 6:20
- (21) Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, Vol 1,Aliphatic Compounds Part F
- (22) Whistler R.F.,Be Miller J.N. Methods in Carbohydrate Chemistry (1963) Vol2:484

- (23) *ibid.* (22) : 477
- (24) Anet E.F.L.J. (1960) *Australian L. Chem.* 13:396
- (25) *Organic Synthesis* Vol 4:824
- (26) Fischer H.O.L., Taube C. *Ber.* (1924) 57:1502
- (27) Muvaffak S. *Chem. Ber.* (1951) 84:477
- (28) Rotemund G.W. Houben Weyl *Oxidation* 2,4. Auflage:204
- (29) Morita N., Inoue K., Takagi M. *Agric. Biol. Chem.* (1985) 49 (11):3279
- (30) Morita N., Inoue K., Takagi M. *Agric. Biol. Chem.* (1983) 47 (9):2053
- (31) Morita N., Inoue K., Takagi M. *Agric. Biol. Chem.* (1981) 45 (11):2665
- (32) Morita N., Inoue K., Takagi M. *Agric. Biol. Chem.* (1983) 47 (6):1329
- (33) Morita N., Hayashi K., Takagi M., Miyano K. *Agric. Biol. Chem.* (1983) 47 (4):757
- (34) Morita N., Mizutani M., Hayashi K., Kirihata M., Ichimoto J., Ueda H., Takagi M. *Bull. Univ. Osaka Prefecture, Series B* (1983) Vol 35:59
- (35) El Khadem H., Horton D., Meshreki M.H., Nashed M.A. *Carbohydr. Res.* (1971) 17:183
- (36) *Heterocyclic Compounds* Vol 5:267
- (37) Nahayawa K., Onoue H. *Tetrahedron Letters* (1965):1433
- (38) Isbell H.S. *Methods in Carbohydrate Chemistry* (1963) Vol 2,3:13
- (39) Pool W.O., Harwood H.J., Ralston A.W. *J. Amer. Chem. Soc.* (1937) 59:178
- (40) Heath C., Roseman S. *Methods in Carbohydrate Chemistry* (1963) Vol 2,38:138
- (41) Hayashe F., Kato H. *Amino-Carbonyl-Reactions in Food and Biological Systems*, Elsevier Science Publishers B.W. (1986):39
- (42) Breslow R. *J. Amer. Chem. Soc.* (1958) 80:3719
- (43) Brown B., Hammik D. *J. Chem. Soc.* (1949):659
- (44) Stetter H. *Angewandte Chemie* (1976) 88, Heft 21:695
- (45) Houben Weyl *Sauerstoffverbindungen* 2 (1954):317
- (46) Langenbeck W. *Liebigs Annalen der Chemie* (1931):485

- (47) Habernegg R., Ledl F. (1987) LMU München, unveröffentlichte Ergebnisse
- (48) Morita N., Takagi M. Development in Food Science 13 Elsevier (1986):59
- (49) Shaw E.P., Tatum J.H., Berry E.R. Carbohydr. Res. (1971) 16:207
- (50) Beck J., Ledl F., Severin Th. Carbohydr. Res. (1988) 178:000
- (51) Hodge J.E., Rist C.E. J. Amer. Chem. Soc. (1953) 75:316
- (52) Micheel F., Hagemann G. Ber. (1959) 92:2836
- (53) Hodge J.E., Fisher B.E. Methods in Carbohydrate Chemistry (1963) 2:99
- (54) Heyns K., Noack H. Chemische Berichte (1964) I:97
- (55) Hodge J.E., Nelson C.E. Cereal Chem. (1961) 38:207
- (56) Jurch G.R. jr., Tatum Jh. Carbohydr. Res. (1979) 15:233
- (57) Ishizu A., Lindberg B., Theander O. Carbohydr. Res. (1967) 5:329
- (58) Fisher B.E., Sinclair H.B., Goodwin J.C. Carbohydr. Res. (1983) 116:209
- (59) Mayer R., Runge K., Drechsel H. Zeitschrift für Chemie (1963) 3:134
- (60) Houben Weyl, 4. Auflage, Stickstoffverbindungen 11: 89
- (61) Werle E. Diss. Univ. München 1928: 11,33,34.
- (62) Pinner A. Ber. (1905) 38:1532
- (63) Neuberg C., Kobel M. Biochemische Zeitschrift 188:209
- (64) Müller H., v.Pechmann H. Ber. (1889) 22:2559
- (65) Pinner A. Ber. (1905) 38:1533
- (66) Houben Weyl, Vierte Auflage, Sauerstoffverbindungen III:455
- (67) Houben Weyl, Vierte Auflage, Sauerstoffverbindungen II:190

Lebenslauf

Ich, Jakob Beck, wurde am 05.05.1959 in Vilshofen als Sohn des Vaters Joseph Beck und der Mutter Ottilie Beck, geb. Leidl, geboren.

Von 1965 bis 1970 ging ich in die Volksschule Ritter-Tuschl in Vilshofen.

Ab 1970 besuchte ich das Gymnasium in Vilshofen, wo ich 1979 das Abitur ablegte.

In der Zeit von Juli 1979 bis Juni 1981 absolvierte ich meinen Militärdienst (SAZ 2).

Im WS 1981/82 begann ich mit dem Studium der Lebensmittelchemie an der LMU München.

Nach dem 04. Semester legte ich die Vorprüfung ab und nach dem 08. Semester die erste Staatsprüfung für Lebensmittelchemiker.

Seit dem 01.01.1986 arbeite ich unter Anleitung von Herrn Professor Dr. Th. Severin am Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der LMU München an der vorliegenden Dissertation.

